



Hétérocycles aromatiques étendus : variations structurales pour l'auto-assemblage bi-dimensionnel et la reconnaissance d'ADN G-quadruplexe

Hélène Bertrand

► To cite this version:

Hélène Bertrand. Hétérocycles aromatiques étendus : variations structurales pour l'auto-assemblage bi-dimensionnel et la reconnaissance d'ADN G-quadruplexe. Chimie. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2008. Français. NNT : . tel-00343363

HAL Id: tel-00343363

<https://theses.hal.science/tel-00343363>

Submitted on 1 Dec 2008

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE

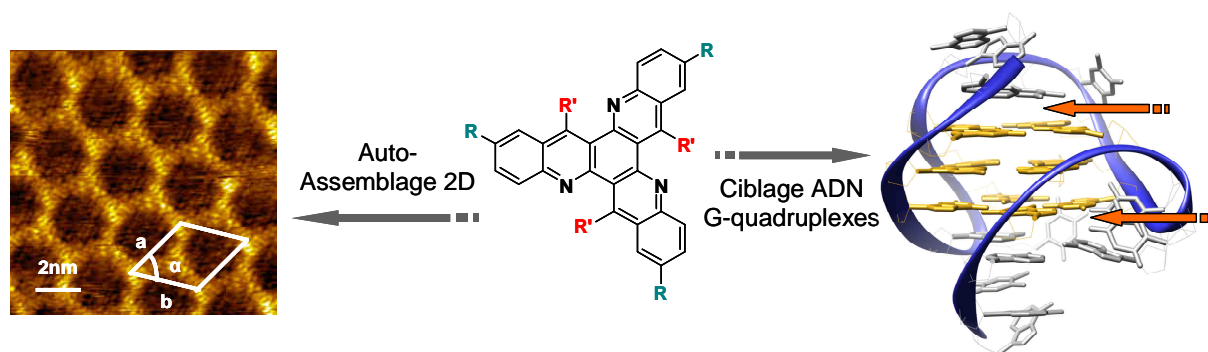
Spécialité
Chimie moléculaire

Présentée par

Hélène BERTRAND

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR de l'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE



Sujet de la thèse :

Hétérocycles aromatiques étendus : variations structurales pour l'auto-assemblage bi-dimensionnel et la reconnaissance d'ADN G-quadruplexe

Soutenue le 24 Octobre 2008

Devant le jury composé de :

Dr. Marie-Paule TEULADE-FICHO
Dr. Denis FICHO
Dr. Gérald DUJARDIN
Dr. Philippe BELMONT
Dr. Geneviève PRATVIEL
Dr. Fabrice CHARRA
Pr. Max MALACRIA

Directrice de thèse
Co-Directeur de thèse
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur

Remerciements

Un peu plus de trois ans de travail, entre mon DEA et ma thèse, et tant d'expériences et de rencontres, autant humaines que professionnelles. Les quelques mots que j'écris ici sont nécessairement moins riches que ce que j'aimerais en dire.

J'ai réalisé ma thèse sous la direction de Marie-Paule Teulade-Fichou, tout d'abord au Collège de France puis au sein de l'UMR176 à l'Institut Curie, sous la co-direction de Denis Fichou au laboratoire nanostructures et semi-conducteurs organiques du CEA-Saclay. Je remercie chaleureusement Marie-Paule pour son accueil et son encadrement, pour son enthousiasme scientifique communicatif. Je lui suis très reconnaissante de la confiance, de l'autonomie et du soutien qu'elle m'a toujours accordés. Nos discussions et sa grande culture scientifique m'ont beaucoup appris, merci ! Je remercie vivement Denis de m'avoir accueillie dans son équipe au CEA-Saclay, et de m'avoir laissé une grande liberté dans la gestion de ce projet de thèse. J'espère avoir satisfait ses attentes. Je le remercie également de m'avoir fait découvrir avec enthousiasme le vaste domaine des matériaux organiques. Ce travail de thèse a été financé par une bourse BDI CEA/CNRS, je remercie ces deux organismes pour leur soutien durant ces trois ans.

Je tiens à remercier vivement Philippe Belmont et Gérard Dujardin d'avoir accepté le rôle de rapporteur. Je remercie le Professeur Max Malacria de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de thèse, ainsi que Geneviève Pratviel et Fabrice Charra d'avoir accepté d'être membre du jury et d'évaluer ce travail.

De nombreuses personnes, dans les différents labos impliqués dans cette thèse, ont contribué à ce travail. Je commencerai par l'UMR176 de l'Institut Curie. Je remercie en premier lieu les « ex-Collège », partenaires de déménagement et de nouvelles prises de repères et tout d'abord David. David, qui m'a encadré pendant trois ans et demi avec une patience sans faille et sans limite, qui s'est toujours montré disponible pour n'importe quelle raison. Il a contribué énormément à ce travail, et l'a toujours positivé. Il m'a appris beaucoup de choses en synthèse, en spectroscopie, en général sur les G-quadruplexes etc. et m'a transmis entre autres sa rigueur de présentation (mais pas le goût des couleurs...). Pour tout ça, son soutien et son écoute permanents et bien d'autres choses encore, je le remercie profondément. J'espère qu'une nouvelle occasion de travailler ensemble se présentera un jour. Je remercie Anton, pour sa synthèse du Trisquinolizinium parallèle à la mienne et les études de coupure photoinduite sur plasmide, Guillaume pour son amitié et pour m'avoir supporté

dans le bureau et dans le labo pendant deux ans avec mes excès ‘occasionnels’ et Nicolas, pour les premiers travaux sur les TrisK et pour son aide informatique, surtout avec gaussian et word, donnée toujours si gentiment. Son approche ‘zen’ a souvent calmé mes débordements... Je les remercie pour les bons moments partagés, pour les ‘pauses’ à Orsay etc. Je remercie Eric pour son travail sur l’optimisation des complexes de terpyridine et sa bonne humeur, Marianne pour la masse, Nathalie pour son aide dans les tâches administratives et Jason pour sa disponibilité et sa gentillesse. Enfin, je remercie toute l’équipe de l’UMR176 pour l’ambiance du labo et les deux ans partagés ainsi que toutes les personnes des bâtiments 110 et 112 contribuant au bon fonctionnement des labos, Denise et Stéphane en particulier.

Passons maintenant au CEA. Un grand merci à Sacha Marchenko qui m’a enseigné la microcopie à effet tunnel avec patience et passion. Je voudrais remercier tous les membres du laboratoire passé et présent pour leur aide, leur soutien et nos discussions enrichissantes : Alexandre, Nripan, Ludo, Stéphane et une mention particulière pour Camille. Je ne sais pas comment j’aurais fait sans elle en de nombreuses occasions. Je les remercie également, ainsi que Odile, Claudia et Sylvain, pour les bons moments passés au CEA et en dehors. Un grand merci à Fabien, arrivé au laboratoire récemment, pour son aide précieuse à la compréhension de certains aspects scientifiques et à la préparation de ma soutenance. Merci à Catherine pour les tâches administratives, à Pascal pour les mesures de voltamétrie cyclique et à l’ensemble du service SPCSI pour son accueil.

Petit retour historique au Collège de France où j’ai effectué mon DEA et la première année de ma thèse, une période que j’ai adoré. Je remercie le Professeur Lehn pour son accueil au sein de son laboratoire, Hervé (et son enthousiasme pour la science !), Michel, Robert (et sa cuisine !), Juan, Anne et Audrey. Je remercie également Ben, Falk, Marcus, Rémi (et son travail sur les quinacridines), Clémence (et ses mesures de voltamétrie cyclique sur le Trisquinolizinium) et Lucie. Je remercie enfin Denise, Jacqueline (et son aide biblio), Philippe (pour sa gentillesse et son aide technique), Josée ‘la mémoire du labo’ et Béatrice (pour son caractère et son efficacité). Merci à tous pour cette ambiance de travail conviviale, pour les pots sur la terrasse ou au 5^{ème} étage, pour cette première année qui m’aura beaucoup marquée.

Toutes les études de platination des G-quadruplexes ont été réalisées au laboratoire de Sophie Bombard à l’université Paris V. Je remercie chaleureusement Sophie pour toutes ces études qu’elle a menées en grande partie seule malgré un emploi du temps plus que chargé,

pour son accueil et pour sa pédagogie douce et efficace. Je la remercie pour son soutien, son écoute, son altruisme et d'avoir accepté d'être ma marraine de thèse. Je voudrais également remercier Thibault pour son travail minutieux, Razan pour ses études avec le Pt-MPQ dans sa thèse et Claude Chopard pour son aide précieuse dans la chimie du platine.

Un grand merci à Jean-Louis Mergny au muséum d'histoires naturelles pour les études de FRET. Celles-ci ont été réalisées par Anne de Cian et Aurore Guedin, je les remercie vivement toutes les deux.

Merci beaucoup à Régis Guillot de l'ICMMO pour toutes les structures cristallographiques. Je le remercie pour sa disponibilité et sa rapidité à résoudre mes structures.

Je voudrais également remercier Nathalie et Anne-Carine au laboratoire Matière Molle et Chimie de l'ESPCI pour les mesures de DSC.

Merci enfin au Professeur Bednarski pour les tests cellulaires encourageants (dont les résultats ne figurent pas dans le manuscrit).

De manière un peu plus personnelle maintenant, merci pour tout aux Tourangeaux dont la plupart m'accompagne depuis plus de dix ans. Merci en particulier à Ludo et Christounette, JB, Thibaud, Matt, Pépé (qui m'a souvent demandé si mes molécules étaient gentilles...) et Guat, merci pour tout ce que nous avons partagé et votre amitié si précieuse. Merci à tous de vous être déplacés si nombreux pour ma soutenance et d'avoir contribué à faire de cette journée (ou plutôt de ce week end..) un moment inoubliable. Merci à Loïc et Soumya. Un immense merci à tous mes amis PCens, de longue date aussi maintenant, et particulièrement Dam et Geugeu (pour tout ce que nous partageons), Papa Ibon (merci pour la RMN du platine, les cours de DFT et notre prochain saut en parachute), Beefy (et nos repas toujours si bénéfiques à mon efficacité), Marco (et son accueil à Tokyo), Beufa mon binôme, Alex (et sa mémoire infailible de ce qu'on préfèrerait oublier), Solène et Marion (le club !). 7 ans fabuleux en votre compagnie, et c'est loin d'être fini ! Un grand merci à l'ABS et longue vie à nos projets.

Merci à ma famille, à mes parents, pour tout et pour les produits du terroir tourangeaux et à mon frerot préféré Nico. Merci à Claude et à Yves, mes 'beaux-parents', d'être venus de Chambéry pour ma soutenance et pour les produits savoyards. Merci enfin à Max, de partager ma vie, de son aide et de sa patience si souvent sollicitées.

Sommaire

Introduction générale	1
I. Phénomènes d'auto-assemblages.	1
I.1. Généralités	1
I.2. Systèmes biologiques.	2
I.3. Systèmes artificiels, nanotechnologies.	3
I.4. Systèmes artificiels à partir d'objets biologiques.	5
II. Interactions intervenant dans les auto-assemblages.	7
III. Contexte général de ce travail.	9
Partie 1	13
Introduction.....	15
I. Monocouches auto-assemblées de molécules organiques.	15
II. Introduction à la microscopie à effet tunnel	16
II.1. Principe de l'effet tunnel	16
II.2. La microscopie à effet tunnel et le modèle de Tersoff et Hamann.	17
II.3. Fonctionnement du STM.....	19
II.4. STM à l'interface liquide/solide.....	21
II.4.1. Dispositif	21
II.4.2. Liquides adaptés.....	22
II.4.3. Substrats utilisés	23
II.4.4. Exploitation des images.	25
III. Auto-assemblages de molécules de symétrie ternaire.....	25
III.1. Cristaux liquides discotiques de symétrie ternaire.....	26
III.1.1. Cristaux liquides discotiques : ordre.	26
III.1.2. Mésogènes discotiques	27
III.1.2.1. Dérivés de benzène.	27
III.1.2.2. Hydrocarbures poly-aromatiques.	28
III.1.2.3. Hétérocycles aromatiques.....	29
III.1.3. Propriétés de transport des cristaux liquides discotiques de symétrie ternaire.....	31
III.2. Monocouches de molécules discotiques de symétrie ternaire.	32
III.2.1. Dérivés de benzène.	32
III.2.2. Hydrocarbures aromatiques.	33
III.2.3. Hétérocycles aromatiques.....	35
III.2.4. Autres exemples : Dehydrobenzo[12]annulene ([12]-DBA) et Dehydrobenzo[18]annulene ([18]-DBA).	36
Chapitre 1 : Triazatrinaphthylènes (TrisKs): structure et synthèse	39
I. Les TrisKs, structure.	39
II. Travaux antérieurs	40
III. Synthèse des Triazatrinaphthylènes.....	41
III.1. Synthèse des TrisKs trisubstitués ($R'_1=H$, R_1 variable)	41
III.2. Synthèse des TrisKs hexasubstitués ($R'_1=R_1 \neq H$).	48
III.3. Vers l'extension du cœur aromatique TrisK.....	50
IV. Structure cristallographique de 8d.....	51

Chapitre 2 : Formation de monocouches auto-assemblées par les TrisKs	55
I. Influence de la nature et de la longueur des chaînes	55
II. Auto-assemblage 2D des TrisKs chlorés.....	66
II.1. Structure des auto-assemblages 2D formés par les TrisK 7 chlorés.	66
II.2. Influence des chlores sur l'auto-assemblage.....	69
III. Influence du nombre de chaînes.....	72
IV. Sonder les états électroniques.....	77
V. Chiralité des monocouches formées par les TrisKs.....	79
VI. Conclusions	81
Chapitre 3 : vers des caractérisations de propriétés en solution des TrisKs.....	83
I. Propriétés électroniques	83
II. Etudes préliminaires sur le comportement thermotropique des TrisKs.....	90
Conclusions générales et perspectives.....	94
Bibliographie	95
Partie 2	103
Introduction.....	105
I. ADN G-quadruplexe, structure et rôle biologique.....	105
I.1. Caractéristiques des structures G-quadruplexes	105
I.2. Rôles biologiques.	107
II. Télomères et G-quadruplexes télomériques.....	110
II.1. ADN télomériques : séquences et structures G-quadruplexes	110
II.2. Protéines télomériques, complexe 'shelterin' et télomérase	113
II.2.1. <u>Complexe 'shelterin'</u>	113
II.2.2. <u>Télomérase</u>	115
II.2.3. <u>Inhibition de la télomérase</u>	116
III. Ligands de G-quadruplexe.....	116
III.1. Familles de ligands et modes d'interaction.....	116
III.1.1. <u>Ligands anioniques ou neutres</u>	118
III.1.2. <u>Ligands protonés sur des chaînes latérales</u>	119
III.1.3. <u>Ligands N-méthylés</u>	121
III.1.4. <u>Complexation d'un centre métallique</u>	123
III.2. Effets cellulaires des ligands de G-quadruplexe.....	125
III.3. Evaluation des ligands de G-quadruplexes : modes d'interaction, affinité et sélectivité	126
III.3.1. <u>Etudes structurales</u>	126
III.3.2. <u>Techniques permettant d'évaluer l'affinité et la sélectivité</u>	129
Chapitre 1 : Ligands de G-quadruplexe de symétrie ternaire.....	135
I. TrisKs substitués par des chaînes aminées.....	135
I.1. Origine du design.	135
I.2. Synthèse des Trisamino-TrisKs.....	137
I.3. Etudes spectroscopiques : estimation de la charge des Trisamino-TrisKs à pH physiologique.....	139
I.4. Interaction des Trisamino-TrisKs avec les G-quadruplexes formés par la séquence	

télomérique humaine.....	143
I.4.1. <u>Affinité pour l'ADN G-quadruplexe.</u>	143
I.4.2. <u>Evaluation de la sélectivité</u>	145
I.5. Conclusions	150
II. Ligand de symétrie C_{3h} intrinsèquement cationique : Trisquinolizinium TrisQ ..	151
II.1. Synthèse du Trisquinolizinium TrisQ	152
II.2. Structure cristallographique	153
II.3. Interaction du Trisquinolizinium TrisQ avec les G-quadruplexes dérivés de la séquence télomérique humaine.	154
II.3.1. <u>Affinité pour les G-quadruplexes.</u>	154
II.3.2. <u>Sélectivité pour les G-quadruplexes.</u>	155
II.4. Photooxydation des bases de l'ADN par le TrisQ.	159
II.4.1. <u>Potentiel redox à l'état excité</u>	160
II.4.2. <u>Coupage de l'ADN induite par irradiation</u>	162
II.5. Conclusions	164
III. Conclusions générales et perspectives.....	165
Chapitre 2 : Complexes métalliques de dérivés de terpyridines	167
I. Complexes métalliques de terpyridine, généralités.....	167
II. Synthèse et étude de complexes métalliques de dérivés de terpyridine.....	169
II.1. Synthèse des complexes.	169
II.2. Etudes de l'interaction des complexes métalliques avec le G-quadruplexe.....	170
II.2.1. <u>Affinité pour les structures G-quadruplexes.</u>	170
II.2.2. <u>Sélectivité pour les G-quadruplexes.</u>	173
II.2.3. <u>Rationalisation des résultats de Cu-ttpy 22, études cristallographiques.</u>	175
III. Conclusions et perspectives.....	176
Chapitre 3 : Platination des G-quadruplexes par des complexes de platine... 179	
I. Introduction.....	179
I.1. Complexes de platine et stratégie anti-cancéreuse	179
I.2. Interaction du cisplatine et de quelques dérivés avec l'ADN télomérique et la télomérase	182
I.3. Interaction des complexes de platine avec les G-quadruplexes.	184
II. Platination des G-quadruplexes par les complexes de terpyridine.....	185
II.1. Réactions de platination et analyses des sites de fixation	185
II.2. Discussion et conclusions	189
III. Hybrides Quinacridine-Platine pour le piégeage de structures G-quadruplexes. 191	
III.1. Conception des hybrides Quinacridine-Platine.....	191
III.2. Synthèse et étude du premier hybride Pt-MPQ.	192
III.2.1. <u>Synthèse</u>	192
III.2.2. <u>Platination des structures G-quadruplexes par l'hybride Pt-MPQ.</u>	196
III.2.3. <u>Analyse des sites de platination des G-quadruplexes par le Pt-MPQ</u>	198
III.2.3.1. <i>Par clivage chimique : traitement au DMS/pipéridine</i>	198
III.2.3.2. <i>Par digestion enzymatique : 3'-exonucléase.</i>	200
III.2.4. <u>Cinétique de platination G-quadruplexe vs duplexe d'ADN</u>	201
III.2.5. <u>Discussion et conclusion</u>	203
III.3. Extension de la famille des hybrides : variation de la longueur de l'espaceur.	205
III.3.1. <u>Synthèse</u>	205
III.3.2. <u>Platination des G-quadruplexes par les hybrides 49-51.</u>	208
III.4. Conclusions et perspectives	209

IV. Conclusions sur la platination des structures G-quadruplexes.	211
Conclusions générales et perspectives.....	213
Bibliographie	215
Publications.....	230
Annexes.....	231
Annexe A :	231
Annexe B :	232
Annexe C :	233
Annexe D :	234
Annexe E :	235
Annexe F :	236
Annexe G :	237
Annexe H :	239
Annexe I :	241
Partie expérimentale	247

Introduction générale

L'auto-assemblage de molécules par des forces non covalentes est un processus à l'origine de nombreux phénomènes aussi bien en sciences des matériaux qu'en biologie. La structure de l'auto-assemblage est corrélée avec sa fonction et l'ordre dans les matériaux permet le transfert de l'information. La nature, par exemple, crée des systèmes incroyablement complexes et efficaces. Cette puissance réside dans la construction minutieusement contrôlée d'édifices moléculaires et dans l'assemblage de ces derniers pour atteindre des niveaux d'organisation toujours plus élevés. La compréhension des interactions intermoléculaires à l'origine de l'auto-organisation et leur contrôle suscitent un intérêt constant comme le montre le développement de la chimie supramoléculaire. L'utilisation des interactions intermoléculaires pour la formation de systèmes auto-assemblés ou la reconnaissance moléculaire trouve ainsi des applications dans de nombreux domaines, de la biologie aux matériaux. Ces derniers, qui semblent pourtant très éloignés, se rejoignent par l'exploitation des mêmes phénomènes et, comme nous le verrons, peuvent même parfois s'imbriquer.

I. Phénomènes d'auto-assemblages.

I.1. Généralités

L'étude des auto-assemblages moléculaires est l'objet de la chimie supramoléculaire, domaine qui s'est progressivement développé depuis la seconde moitié du vingtième siècle, grâce notamment aux travaux de J.-M. Lehn, D. Cram et C. Pedersen [1-3]. L'auto-assemblage moléculaire désigne la formation de structures ordonnées à partir de briques élémentaires (petites molécules), de manière spontanée, *i.e.* sans assistance extérieure. Ces systèmes supramoléculaires sont basés sur des interactions non-covalentes de faible énergie parmi lesquelles les forces électrostatiques, les liaisons hydrogène, les forces de Van der Waals, les interactions d'empilement aromatique (π -stacking), ou encore les liaisons de coordination aux métaux de transition. Ces assemblages intermoléculaires sont à l'origine de nombreux concepts et études : construction d'architectures complexes, auto-assemblages moléculaires bi- ou tri-dimensionnels, systèmes hôtes/invités, reconnaissance de forme, de structure etc.

I.2. Systèmes biologiques.

Les systèmes vivants sont caractérisés par l'omniprésence des auto-assemblages moléculaires. On peut ainsi citer, à différentes échelles, les membranes cellulaires (bicouches lipidiques s'associant par interactions hydrophobes entre les phospholipides les constituant), la reconnaissance spécifique d'un agoniste et de son récepteur (pouvant faire intervenir des liaisons hydrogènes, des interactions hydrophobes etc.) et bien sûr la molécule d'ADN, support de notre information génétique, qui nous intéresse particulièrement dans le cadre de cette thèse.

La forme canonique de l'ADN, proposée par J. Watson, F. Crick, M. Wilkins et R. Franklin en 1953 [4-7] est une double hélice droite constituée de deux brins antiparallèles. Ces deux brins sont associés par des liaisons hydrogènes (dites de type Watson-Crick) entre les bases complémentaires A-T (adénine-thymine) et G-C (guanine-cytosine) (Figure 1a et b). Cette structure est par ailleurs stabilisée par des interactions d'empilement (π -stacking) entre les bases et des interactions polaires des groupes phosphates avec l'eau. Cet appariement de type Watson-Crick n'exploite pas au maximum les sites donneurs et accepteurs de liaisons hydrogène des bases nucléotidiques. Celles-ci ont donc la possibilité de s'associer selon des modes différents [8] conduisant à la formation de structures d'ADN différentes de la double hélice. Parmi celles-ci figurent des hélices d'ordre supérieur (c'est-à-dire composées de plus de deux brins) telles que les triples hélices (ou triplexes), les quadruples hélices (ou quadruplexes) etc. En effet, des guanines peuvent s'associer entre elles par liaisons hydrogène de type Hoogsteen (s'effectuant sur le côté non 'Watson-Crick' de la base et faisant intervenir les cycles imidazoles) pour former des triades (constituant élémentaire des triplexes) ou des tétrades (constituant élémentaire des quadruplexes) (Figure 1c). L'empilement de plusieurs tétrades conduit, dans le cas de brins d'ADN riches en guanines, à la formation d'une structure particulière, l'ADN G-Quadruplexe, qui constitue une cible thérapeutique potentielle et qui est à l'origine d'une partie de ce travail de thèse (cette structure d'ADN et son rôle biologique seront détaillés dans l'introduction de la partie 2).

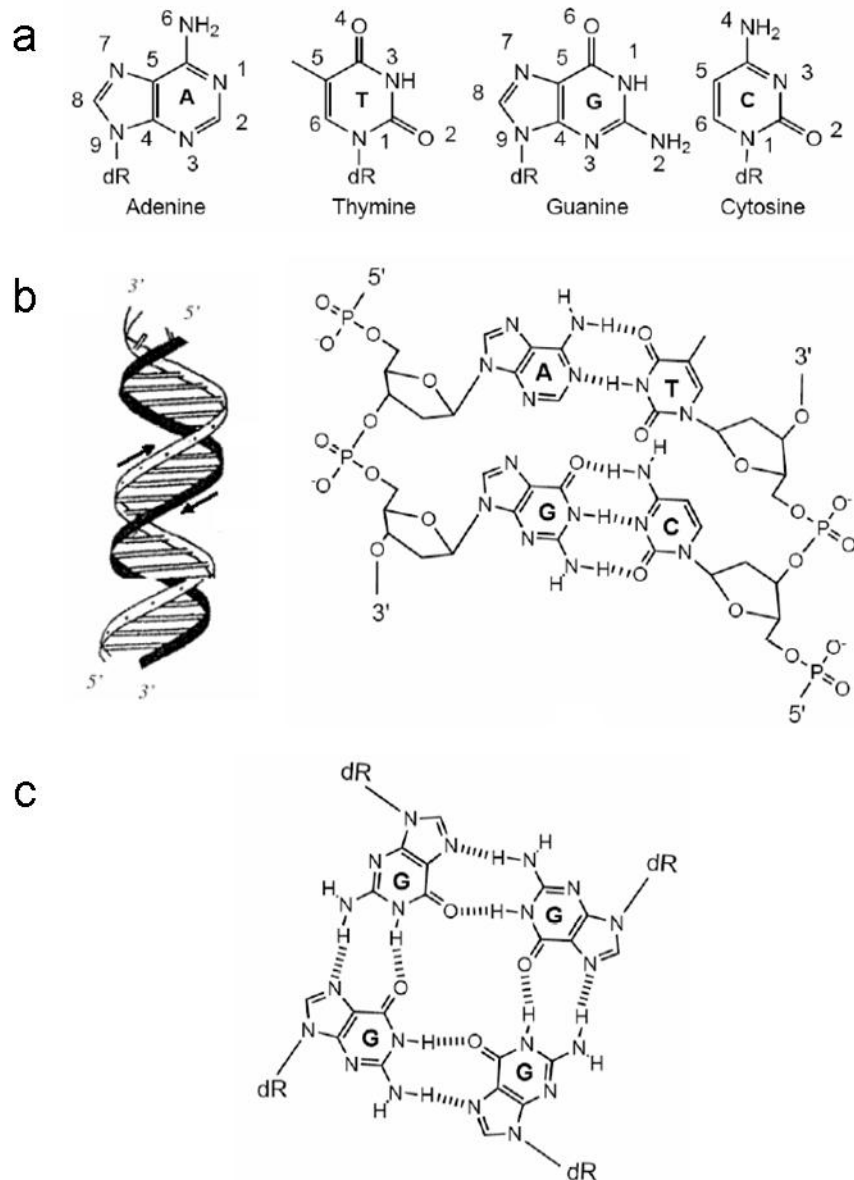


Figure 1. a) Formule chimique des 4 bases constituant l'ADN, b) gauche : schéma de la double hélice d'ADN, droite : appariement Watson-Crick des bases complémentaires, c) quartet de guanines associées par liaisons hydrogène de type Hoogsteen.

I.3. Systèmes artificiels, nanotechnologies.

La recherche de la miniaturisation, au cœur même du domaine des nanotechnologies, nécessite la construction d'objets artificiels structurés à l'échelle du nanomètre. Deux approches opposées dites 'Top-down' et 'Bottom-up' (Figure 2) apportent des solutions pour atteindre ces objectifs. Tandis que la première consiste à contrôler les propriétés et la structure d'un objet aux échelles les plus petites à partir d'outils macroscopiques, on s'attache dans la seconde à réaliser des systèmes macroscopiques complexes par assemblage de briques

élémentaires nanométriques. Les auto-assemblages moléculaires sont donc des outils particulièrement attrayants [9, 10] pour cette seconde approche.

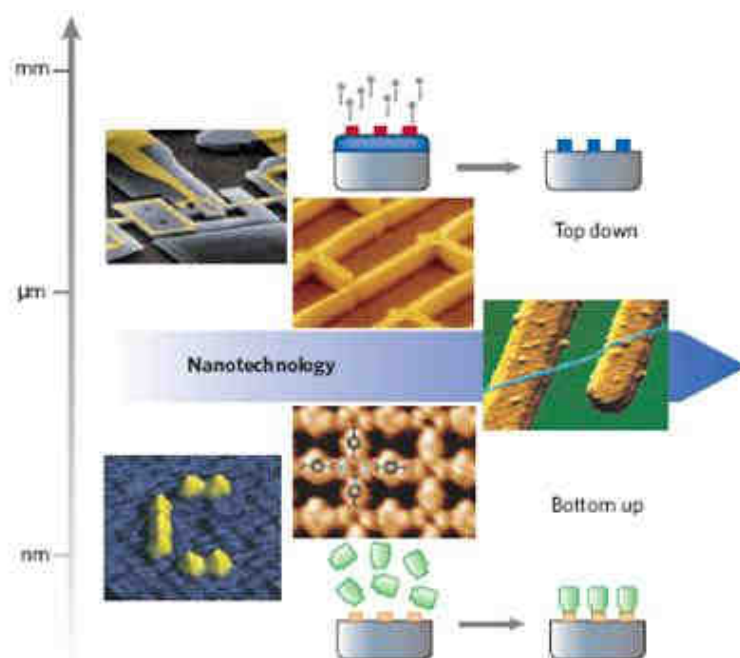


Figure 2. Illustration des deux approches pour le contrôle de la matière à l'échelle nanométrique : Top down et Bottom up (d'après [9]).

Le contrôle des phénomènes dirigeant les auto-assemblages permet la réalisation d'un grand nombre de structures artificielles, comme l'illustre la Figure 3 [11].

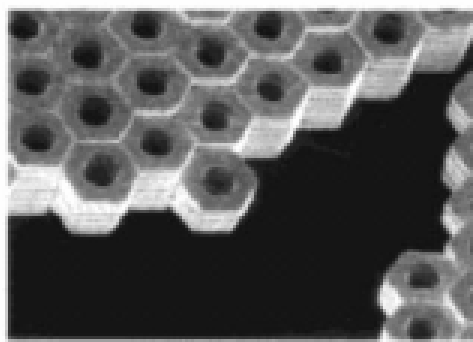


Figure 3. Disques inorganiques auto-assemblés par capillarité (d'après [11]) (taille caractéristique d'un disque : 10 μm).

Un intérêt supplémentaire des systèmes auto-assemblés réside par ailleurs dans le domaine de la science des surfaces et des matériaux organiques. En effet, la formation de structures bi-dimensionnelles organisées sur des surfaces a de nombreuses applications technologiques dans les domaines de l'électronique ou du photovoltaïque, la plupart des composants étant des

matériaux ‘supportés’ (déposés sur des surfaces). Dans ce cadre, le développement des microscopies à sonde locale et en particulier du microscope à effet tunnel (Scanning tunneling microscopy, STM) a ouvert de nouvelles perspectives dans l’étude de monocouches auto-assemblées sur des surfaces à l’échelle nanométrique. Ces études constituent une autre partie de ce travail et font l’objet d’une introduction détaillée dans la première partie de cette thèse.

I.4. Systèmes artificiels à partir d’objets biologiques.

La nanobiotechnologie ou nanotechnologie biomimétique, qui consiste à créer des systèmes artificiels auto-organisés à partir d’objets biologiques, est un domaine en pleine expansion et démontre la forte connexion entre science des matériaux et biologie. On peut ainsi citer la fonctionnalisation de nanoparticules inorganiques par des composés biologiques pour l’assemblage d’architectures nanostructurées [12, 13]. L’ADN en particulier est un objet de choix pour la création de nano-objets [14, 15]. Ainsi le groupe de G. Joyce a construit un octaèdre à partir d’un long simple brin d’ADN [16] (Figure 4a). De la même manière, P. Rothemund et ses collaborateurs ont réalisé des assemblages 2D d’un long brin d’ADN selon des formes prédéfinies (Figure 4b) [17].

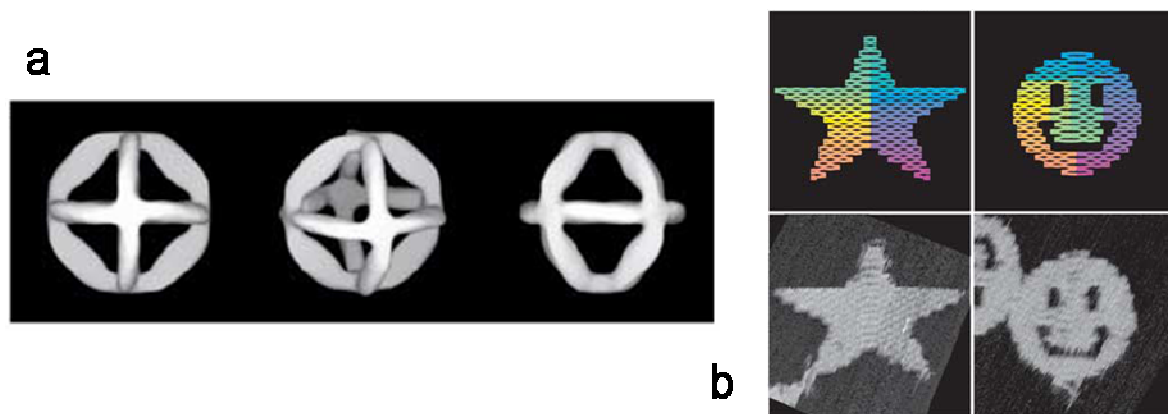


Figure 4. a) Octaèdre (environ 22nm de diamètre, d’après [16]) et b) assemblages 2D en étoile et en ‘smiley’, formés par assemblages de brins d’ADN (taille caractéristique de 100nm, d’après [17]).

Les bases de l’ADN et en particulier les guanines, sont utilisées pour former des structures artificielles. Ainsi les quartets de guanine présentés précédemment (§I.2) peuvent servir de motifs élémentaires pour former des canaux ioniques synthétiques, des gels, des cristaux liquides, des nanomachines etc. Le groupe de J.T. Davis a par exemple développé une guanosine modifiée qui forme une structure G-quadruplexe unimoléculaire par une réaction de métathèse (Figure 5). Cette structure est capable de transporter des ions Na^+ à travers une

membrane phospholipidique [18]. Les travaux réalisés sur les architectures supramoléculaires formées par auto-assemblage de dérivés de guanine font l'objet d'une revue récente de J. Davis et G. S. Spada [19]. Ces systèmes, qui fournissent des modèles pour comprendre l'assemblage dans l'ADN, peuvent trouver des applications dans les nanosciences.

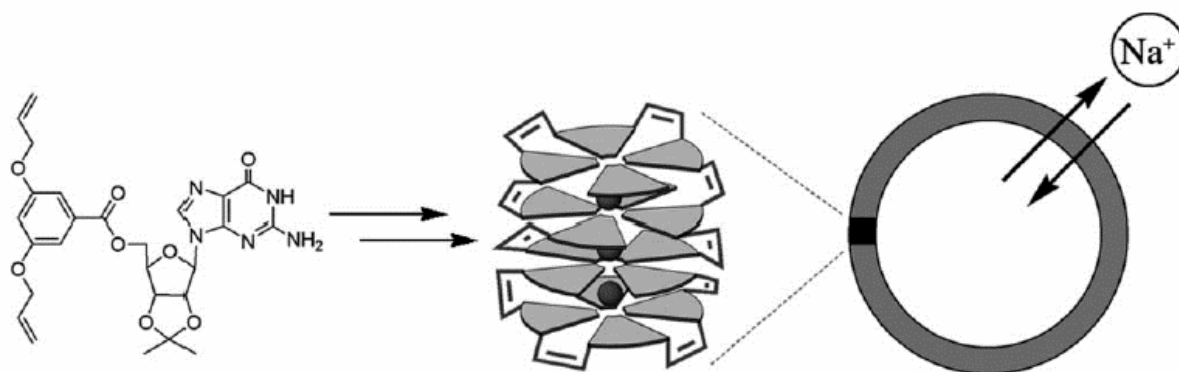


Figure 5. Par réaction de métathèse, la guanosine lipophile (gauche) forme une structure G-quadruplexe unimoléculaire (milieu) qui est capable de transporter des ions sodium (d'après [18]).

Enfin, dans le domaine des microscopies en champ proche et particulièrement en STM, de nombreuses études ont été consacrées aux systèmes biologiques : protéines, acides aminés et bases de l'ADN en particulier. Celles-ci, déposées sous leur forme libre sur des surfaces de graphite, d'or ou de cuivre, forment des monocouches reflétant le caractère essentiel des liaisons hydrogène dans leur association et permettant d'établir un parallèle avec la formation de ces liaisons dans les systèmes naturels d'ADN. Ainsi, si les guanines forment une structure en dimères sur graphite (à l'interface octanol/graphite) [20], leur auto-assemblage en quartets a été observé sur Au(111) : déposées sur un substrat d'Au(111) à température ambiante et en conditions d'ultra-vide, les guanines s'auto-assemblent en un réseau de G-quartets stabilisé par liaisons hydrogène (Figure 6) [21].

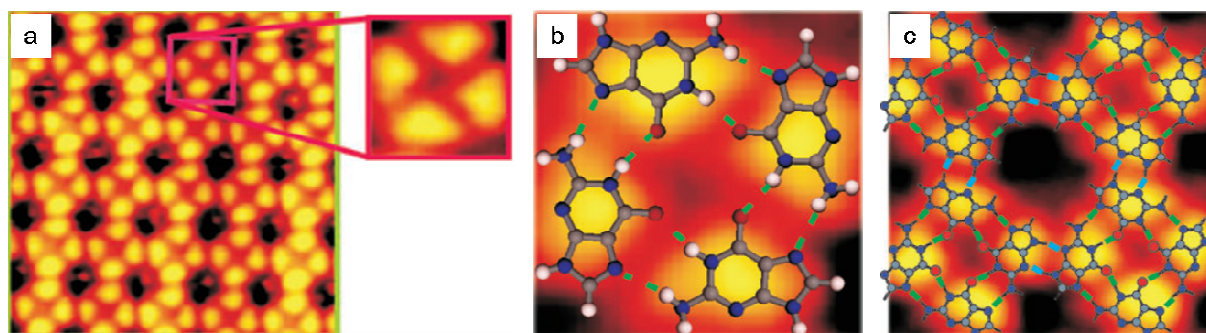


Figure 6. a) Image STM ($8.0 \times 8.0 \text{ nm}^2$) du réseau de guanines à géométrie quasi-carrée. L'encart représente une image haute résolution de la cellule unitaire, b) superposition d'une image haute résolution de la cellule unitaire et d'un G-quartet, c) superposition d'une image STM de plusieurs cellules unitaires et de la structure calculée par DFT (Density Functional Theory) montrant les liaisons H entre les quartets (d'après [21]).

II. Interactions intervenant dans les auto-assemblages.

Les interactions intermoléculaires non covalentes ordonnent les systèmes auto-assemblés. Nous rappelons ici les principales propriétés des interactions les plus rencontrées.

- Les forces électrostatiques. Ce sont des interactions non covalentes intervenant entre deux charges ponctuelles. L'équation fondamentale de l'électrostatique est la loi de Coulomb, le potentiel électrostatique s'écrit (1) :

$$(1) V(r) = \frac{q}{4\pi\epsilon_0 r}$$

avec V le potentiel (en V), q la charge (en coulomb C), ϵ_0 la permittivité du milieu (en Farad par mètre, F/m) et r la distance (en m). Les interactions sont attractives entre deux charges de signe opposé. L'énergie caractéristique de ces interactions est élevée, de l'ordre de 60kcal/mol soit 2.6eV.

- Les interactions de Van der Waals. Ce sont des liaisons faibles résultant des interactions entre les dipôles électriques permanents ou induits des molécules. Leur énergie est modélisée par le potentiel de Lennard-Jones (équation (2) et Figure 7) avec une dépendance en $1/r^6$, où r est la distance entre les unités considérées :

$$(2) V(r) = 4\epsilon\left(\left(\frac{\sigma}{r}\right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r}\right)^6\right)$$

avec ϵ constante pour un type d'atomes donné, σ constante représentant la distance à laquelle les forces attractives et répulsives sont égales et r la distance entre les atomes considérés.

Ce potentiel traduit l'attraction à longue distance, et la répulsion de type sphères dures à courte distance. Les énergies de ces interactions sont de l'ordre de 0.1 à 10kcal/mol soit

0.005-0.5eV (pour rappel, les liaisons covalentes ont des énergies généralement élevées, entre 20 et 100kcal/mol soit 1-4eV).

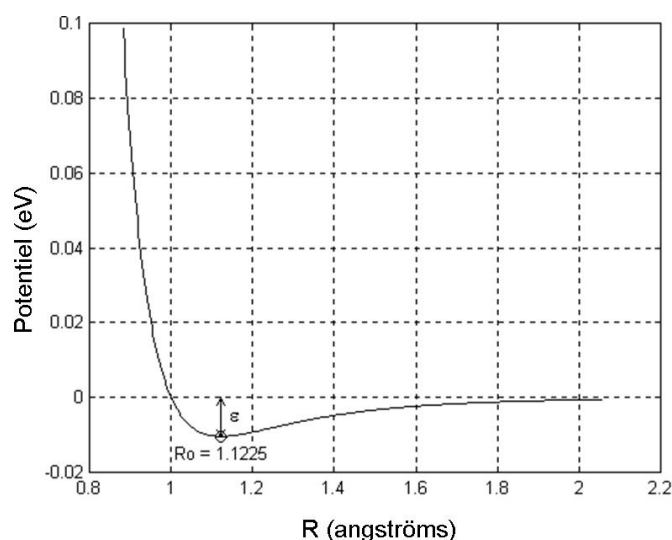


Figure 7. Potentiel d'interaction de Lennard-Jones.

- Interactions aromatiques et π -stacking. Les interactions entre molécules aromatiques sont des liaisons intermoléculaires faibles très importantes dans les domaines de la chimie, de la biologie et des sciences des matériaux. Elles sont de plusieurs types : interactions π -cations, C-H/ π et interactions aromatique-aromatique. Parmi ces dernières, le π -stacking est une interaction entre des systèmes π en contact direct par juxtaposition face à face de deux molécules aromatiques. La distance entre deux surfaces aromatiques empilées est de l'ordre de 3.4Å. Cette interaction de stacking dépend de plusieurs forces non covalentes : effets électrostatiques et en particulier interactions de Van der Waals et désolvatation (contribution hydrophobe) dont les importances relatives sont pondérées selon les milieux [22, 23]. Les caractéristiques générales des interactions aromatiques et leur importance dans les domaines de la biologie (interactions protéines-ligands, structure de l'ADN et intercalation) et de la chimie supramoléculaire sont détaillées dans trois revues récentes de F Diederich [24], C. Hunter [25] et E Meijer [26].

- Les liaisons Hydrogène. Les liaisons hydrogènes (liaisons H) sont de la forme générale X-H...Y où X et Y sont des atomes de plus grandes électronégativités que l'hydrogène (C, O, N, F, P, S, Cl). Ce sont des liaisons directionnelles à la géométrie bien définie, impliquant une combinaison de plusieurs contributions: interactions électrostatiques mais aussi forces de dispersion, de transfert de charge, de polarisation etc. Leur énergie dépend du moment dipolaire de la liaison X-H et de la paire libre d'électrons de l'atome Y [27]. On peut ainsi

distinguer les liaisons H ‘fortes’ d’énergie comprise généralement entre 2 et 20kcal/mol (soit environ 0.1-1eV) comme les liaisons N-H...O ou O-H...O et les liaisons hydrogènes faibles de type C-H...Y [28, 29].

L’existence et le rôle de ces liaisons hydrogène faibles n’ont été pris en considération qu’à partir de 1980. Si dans les liaisons H fortes, les contributions électrostatiques sont majoritaires, ces dernières sont comparables aux contributions de type Van der Waals dans les liaisons H faibles. Les charges partielles typiques (de 0 à +0.3e) portées par l’hydrogène dans ces systèmes dépendent de la nature des groupements adjacents. L’énergie des liaisons H faibles s’étend de 0 à 2kcal/mol et leurs longueurs de 2.2 à 2.8Å, plus grandes que celles des liaisons H usuelles typiquement comprises entre 1.6 et 2.0Å. Ces liaisons H faibles ont permis d’expliquer de nombreux résultats en cristallographie, dans les systèmes biologiques ou dans les processus de reconnaissance moléculaire. La versatilité des liaisons hydrogène et leur coopérativité permet leur application dans un très grand nombre de domaines.

III. Contexte général de ce travail.

Comme nous l’avons vu dans les paragraphes précédents, les interactions faibles intermoléculaires gouvernent les phénomènes d’auto-assemblages et de reconnaissance moléculaire. Leur étude et leur exploitation dans le vaste domaine de la chimie supramoléculaire entraînent l’imbrication fréquente de la biologie et de la science des matériaux.

La similarité des motifs aromatiques condensés (quinacridones, porphyrines, phtalocyanines, pérylènes etc.) utilisés dans les matériaux organiques et en tant que molécules d’intérêt biologique (ligand d’ADN, fluorophore) est frappante. A titre d’exemple, le pérylène diimide peut entrer dans la composition de cellules solaires organiques [30], de cristaux liquides [31] ou d’intercalant d’ADN [32] (Figure 8). Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à développer une famille de molécules basée sur un même squelette hétéroaromatique en vue de deux applications distinctes dans les domaines de la science des matériaux (composants organiques, nanosciences des surfaces) et de la reconnaissance de structure secondaire d’ADN [33].

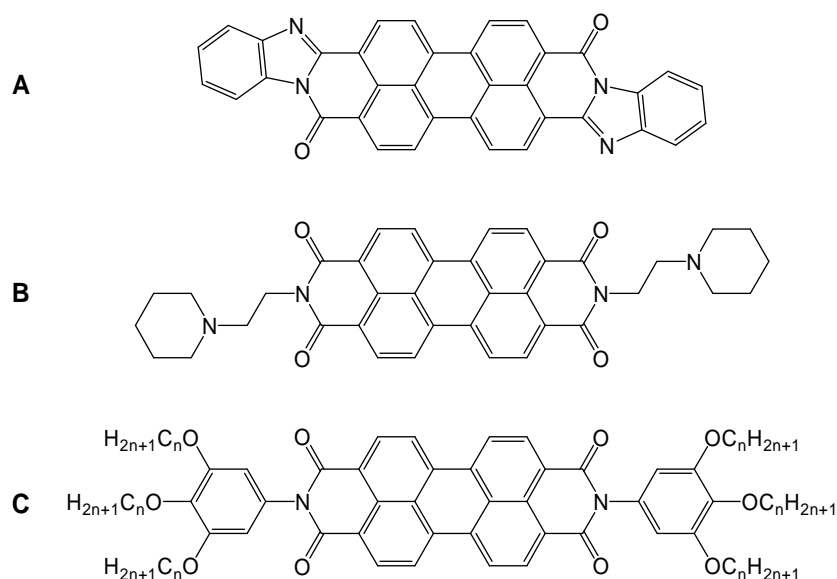


Figure 8. Perylène diimides a) dans les cellules solaires organiques, b) en tant que ligand d'ADN quadruplexe (PIPER) et c) en tant que cristaux liquides.

Le noyau aromatique étudié est le triazatrinaphthylène ou TrisK, par analogie au symbole celtique Triskèle signifiant ‘à trois jambes’; sa surface aromatique est étendue (7 cycles aromatiques accolés) et de symétrie C_{3h} (Figure 9). L'application recherchée oriente la nature des fonctionnalisations (R_1 , R_2 , R_3) introduites sur le noyau aromatique.

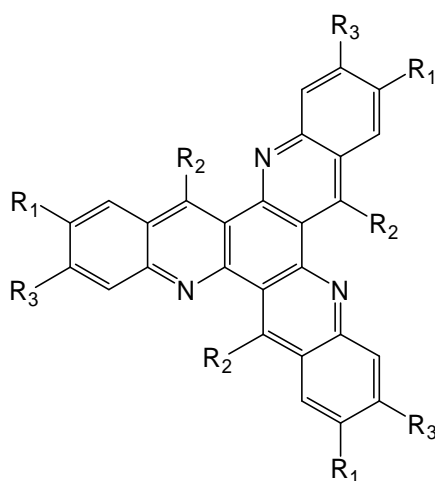


Figure 9. Structure chimique générale des triazatrinaphthylènes.

L'introduction de chaînes alkyles lipophiles sur le cœur aromatique doit améliorer les propriétés d'auto-assemblage de ces molécules (en milieu organique). Elles forment ainsi des monocouches auto-organisées sur des surfaces. La synthèse de ces molécules et l'étude de la formation de ces monocouches sur graphite par microscopie à effet tunnel (STM) à l'interface liquide/solide font ainsi l'objet de la première partie de cette thèse. Nous nous efforcerons de

rationaliser les assemblages observés en termes d'interactions molécule-molécule (Van der Waals, liaisons H faibles) et molécule-substrat.

Les TrisK peuvent également être fonctionnalisés par des chaînes aminées, qui confèrent de l'hydro-solubilité au système aromatique. Ces molécules présentent ainsi un caractère hydrophobe (large surface aromatique) et hydrophile (chaînes protonables). Cette dualité est particulièrement adaptée au ciblage de l'ADN. Nous avons analysé leur aptitude à stabiliser la structure G-quadruplexe, actuellement étudiée de manière intensive ; il a en effet été montré que la stabilisation de l'ADN G-quadruplexe par des ligands pourrait constituer une nouvelle stratégie anti-cancéreuse. La large surface aromatique des TrisKs permet un empilement sur les tétrades alors que les chaînes chargées positivement peuvent interagir avec les sillons chargés négativement [34].

Nous avons également synthétisé dans le même but un analogue structural des TrisKs dont la surface aromatique est chargée positivement de manière intrinsèque. Son interaction avec l'ADN G-quadruplexe et sa capacité à photo-oxyder l'ADN ont été étudiées. Ces travaux constituent le premier Chapitre de la seconde partie de cette thèse consacrée à l'étude de ligands d'ADN G-quadruplexe.

Les connaissances acquises sur cette forme particulière d'ADN nous ont amenés à développer des complexes métalliques en tant que ligands de cette structure, cette classe de composés étant jusqu'alors étonnamment peu développée. Nous montrerons dans le Chapitre 2 de la partie 2 que la géométrie du centre métallique gouverne l'aptitude de complexes de terpyridine à interagir avec le G-quadruplexe.

Enfin le développement de complexes de platine, qui ont la particularité de créer des liaisons quasi covalentes avec les bases nucléiques (guanine et adénine en particulier), nous a permis de piéger les G-quadruplexes de manière irréversible. Ces ligands constituent une sonde pour cette structure d'ADN. L'étude de leur mode d'interaction avec le G-quadruplexe sera présentée au Chapitre 3 de la partie 2.

PARTIE 1

Monocouches 2D auto-assemblées de
Triazatrinaphthylènes.

Introduction

Lorsque des molécules sont déposées sur une surface, elles peuvent s'y adsorber et former une monocouche auto-assemblée. Après un premier paragraphe sur les caractéristiques générales des monocouches auto-assemblées de molécules organiques, nous introduirons la microscopie à effet tunnel qui permet d'en étudier la structure à l'échelle nanométrique. Enfin nous présenterons les travaux réalisés dans le domaine de l'auto-assemblage de molécules de symétrie ternaire.

I. Monocouches auto-assemblées de molécules organiques.

Il existe deux types de monocouches selon la nature des interactions intervenant entre les molécules et la surface : les monocouches chimisorbées et les monocouches physisorbées. Dans le premier cas, les molécules forment une liaison chimique avec la surface. Un cas typique est la chimisorption des thiols sur l'or [35, 36]. Ce mode d'adsorption ne sera pas abordé dans le cadre de ce travail. Dans le cas de la physisorption, seules des interactions faibles de type Van der Waals interviennent. Les molécules conservent donc leur intégrité structurale. Les énergies d'interactions molécule-molécule et molécule-substrat sont comparables ce qui confère aux monocouches formées une grande diversité en structures et en comportements. En effet, soit les interactions molécules-substrat sont dominantes, soit ce sont les interactions molécule-molécule, soit celles-ci coexistent de façon équivalente. La structure de la monocouche formée est donc difficile à prédire pour un composé donné. Cependant de nombreuses stratégies ont été développées pour contrôler les auto-assemblages en guidant les interactions intermoléculaires par l'utilisation des forces de Van der Waals ou des liaisons hydrogènes par exemple [37, 38]. Un cas typique d'auto-assemblage dirigé par les forces de Van der Waals est celui des alcanes linéaires qui s'assemblent sous la forme de lamelles (Figure 10a). Cette interdigitation des chaînes alkyles est souvent mise à profit dans des systèmes plus complexes. Les liaisons hydrogènes sont également largement utilisées par l'introduction de fonctions chimiques adéquates telles que les acides carboxyliques par exemple. Une de ces monocouches formées grâce aux liaisons hydrogène est représentée Figure 10b.

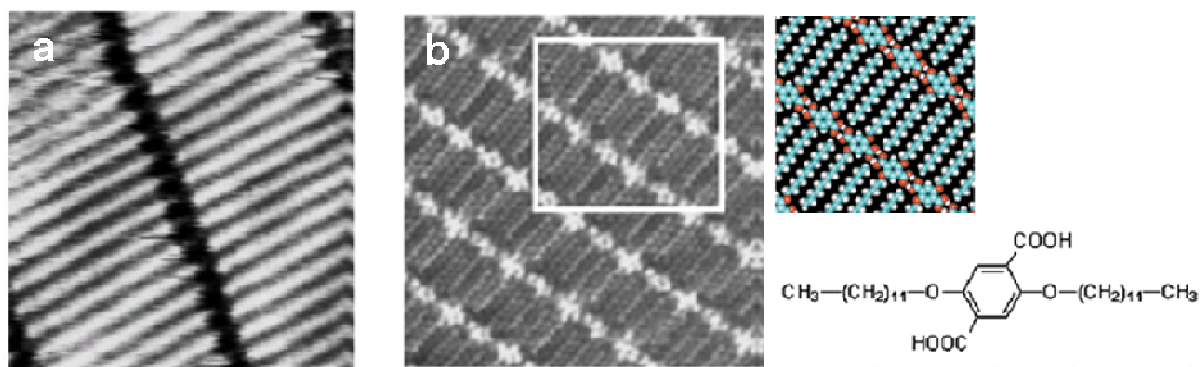


Figure 10. Images STM de monocouches formées sous l'effet de a) forces de Van der Waals : monocouche d'alcane $C_{33}H_{68}$ sur or ($7.5 \times 7.5 \text{ nm}^2$), d'après [39] b) de liaisons hydrogènes, d'après [38] (l'encart correspond à un modèle de l'arrangement observé sur l'image STM).

La structure obtenue est donc le résultat d'une combinaison complexe de différents paramètres. Une étude systématique sur une famille de molécules aux différences structurales légères est donc intéressante pour comprendre l'importance relative de ces interactions.

II. Introduction à la microscopie à effet tunnel

Les microscopies à champ proche se sont récemment largement développées, en particulier la microscopie à effet tunnel (STM) qui est devenue une des techniques principales dans l'étude et la caractérisation de monocouches auto-assemblées sur des substrats conducteurs. Si la première observation de l'effet tunnel date de 1958, le premier microscope à effet tunnel n'a été mis au point qu'en 1982 par Gerd Binnig et Heinrich Rohrer [40-42] qui recevront le prix Nobel de physique en 1986 pour leurs travaux. La très forte dépendance du courant tunnel avec la distance pointe-échantillon permet d'obtenir des images dans l'espace direct avec une résolution atomique. Les principes de fonctionnement d'un microscope à effet tunnel sont présentés succinctement dans ce paragraphe.

II.1. Principe de l'effet tunnel

Considérons un électron d'énergie E se déplaçant de gauche à droite et se heurtant à une barrière de potentiel U (avec $U > E$), de largeur d (Figure 11). En mécanique classique, l'électron ne peut franchir la barrière et sera donc absorbé ou rétrodiffusé. En mécanique quantique, l'électron est considéré comme une onde. Sa fonction d'onde décroît exponentiellement avec la distance parcourue. Ainsi, si la distance d est suffisamment faible

(de l'ordre du nanomètre), la probabilité de passage de l'électron à travers la barrière devient non nulle.

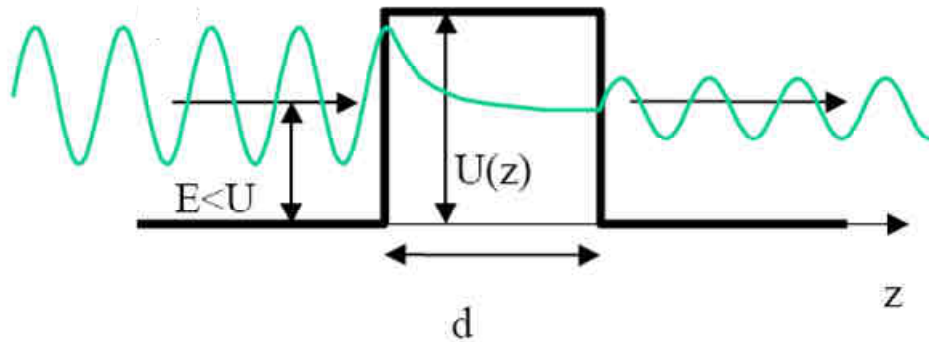


Figure 11. Représentation simplifiée de l'effet tunnel dans un modèle unidimensionnel.

La probabilité de passage de l'électron à travers la barrière est alors exprimée comme :

$$(1) \quad It \propto \exp\left(-2 \frac{\sqrt{2m(U - E)}}{\hbar} d\right)$$

avec m la masse de l'électron, E son énergie, d la distance parcourue et U le potentiel de la barrière.

Cette expression reflète la dépendance exponentielle du courant tunnel avec la largeur d de la barrière de potentiel. C'est cette caractéristique essentielle qui permet le développement d'une microscopie à sonde locale basée sur l'effet tunnel.

II.2. La microscopie à effet tunnel et le modèle de Tersoff et Hamann.

La configuration généralement utilisée dans la microscopie à effet tunnel correspond à une jonction pointe métallique – isolant (air, vide, liquide...) – surface métallique polarisée. Lorsqu'on applique une faible tension entre les deux électrodes ($|eV| \ll \Phi$, où Φ est la hauteur moyenne de la barrière), on peut alors considérer que la barrière adopte une forme trapézoïdale (Figure 12). La différence de potentiel appliquée permet alors de faire circuler le courant dans le sens choisi.

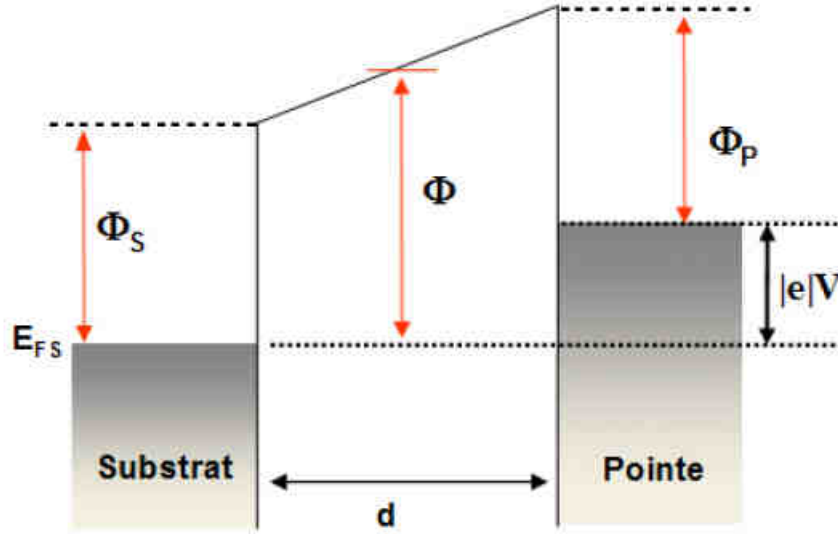


Figure 12. Modèle d'une jonction de microscope à effet tunnel. Une tension V est appliquée entre les deux électrodes (pointe et échantillon).

L'équation (1) donnée précédemment provient d'un modèle simple ne faisant intervenir que la géométrie de l'interface et la largeur de la barrière de potentiel. Le modèle de Tersoff et Hamann [43, 44] donne une expression plus fine du courant tunnel en prenant en compte les propriétés électroniques des deux électrodes. La pointe est modélisée par une sphère de rayon R , centrée en \vec{r}_0 , située à une distance d d'un plan infini (Figure 13). Le travail de sortie Φ de la pointe est pris égal à celui de la surface. Avec une tension de polarisation faible ($|eV_t| \ll \Phi$), une barrière épaisse ($\kappa d \gg 1$) et une agitation thermique négligeable ($kT \ll E_F$), le courant tunnel peut s'écrire :

$$(2) I_t = \frac{32\pi^2 \hbar^3 e^2}{(2m)^2} V_t R^2 D_t(E_F) \rho(\vec{r}_0, E_F) \exp(-2\kappa R)$$

Avec

- e et m , la charge et la masse de l'électron
- V_t la tension appliquée à la pointe STM
- D_t la densité locale d'états électroniques de la pointe à l'énergie de Fermi (E_F)
- $\rho(\vec{r}_0, E_F)$ la densité locale d'états électroniques de la surface au point \vec{r}_0 (au niveau de la pointe) et à l'énergie de Fermi. Ce terme est proportionnel à $\exp(-2\kappa(R + d))$
- $\kappa = \frac{\sqrt{2m\Phi}}{\hbar}$

A travers le terme $\rho(\vec{r}_0, E_F)$, on retrouve la dépendance exponentielle du courant tunnel avec la distance pointe-surface. On peut également noter que le courant tunnel varie linéairement avec la tension appliquée entre la pointe et la surface.

De manière plus intéressante, cette expression rend compte de la dépendance du courant tunnel avec les densités locales d'états électroniques de la pointe et de la surface. Ainsi, les images STM ne doivent pas être interprétées comme des représentations directes de la topographie de l'échantillon mais comme des images de la répartition spatiale des densités locales électroniques de la surface couplées à celles de la pointe.

Enfin, la résolution latérale des images est liée à la forme de la pointe utilisée. L'obtention d'une résolution intramoléculaire nécessite l'utilisation de pointes aussi fines que possible.

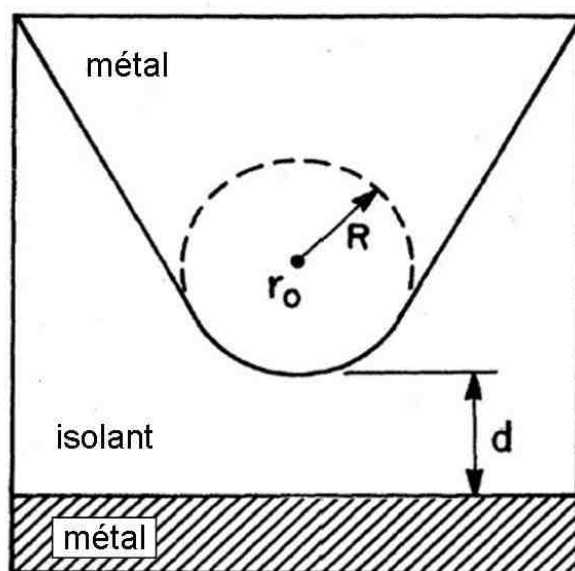


Figure 13. Modèle de Tersoff et Hamann. D'après [44].

II.3. Fonctionnement du STM

Comme expliqué précédemment, la microscopie à effet tunnel consiste à sonder une surface grâce à un courant tunnel appliqué entre cette surface et le bout d'une pointe effilée. Seules les surfaces conductrices ou semi-conductrices peuvent être imagées. Ainsi, pour observer des monocouches moléculaires, très peu conductrices, celles-ci sont déposées sur un substrat conducteur. On image alors les densités électroniques du substrat modulées par celles des molécules adsorbées.

Le balayage de la surface conduit à enregistrer des variations de l'intensité du courant tunnel, liées à la distribution spatiale et énergétique des atomes. Toute la difficulté de mise en œuvre de cette technique réside alors dans la mesure des faibles intensités de courant (inférieures à 50nA) et dans la précision de déplacement de la pointe. Ce dernier est assuré par des céramiques piézoélectriques. Le schéma de fonctionnement d'un microscope à effet tunnel et une photographie du dispositif expérimental utilisé sont représentés en Figure 14.

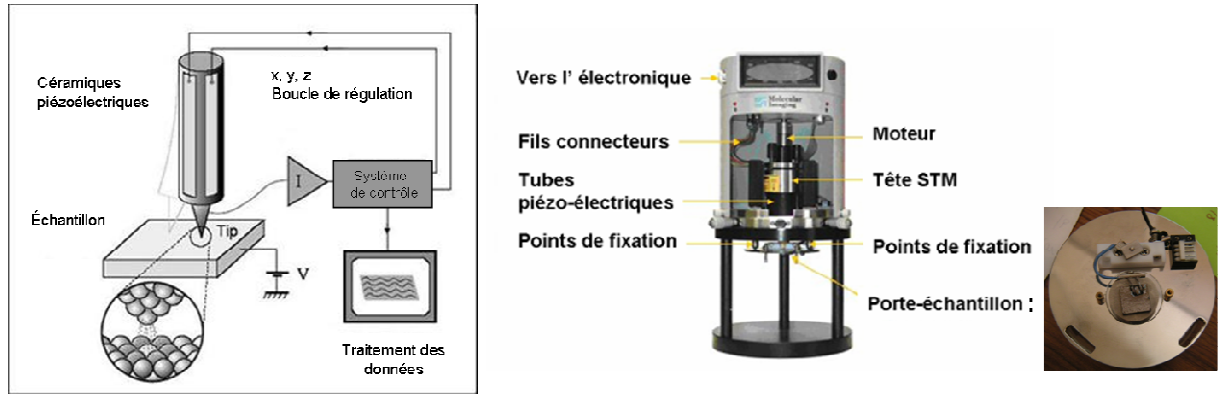


Figure 14. Gauche : schéma de principe de fonctionnement d'un microscope à effet tunnel. Droite : dispositif expérimental (STM et porte échantillon) du STM à l'interface liquide-solide.

Le microscope à effet tunnel peut fonctionner selon les deux modes de balayage 'hauteur constante' ou 'courant constant' (Figure 15) que nous allons décrire brièvement ici. Cependant seul ce dernier a été utilisé au cours de cette thèse.

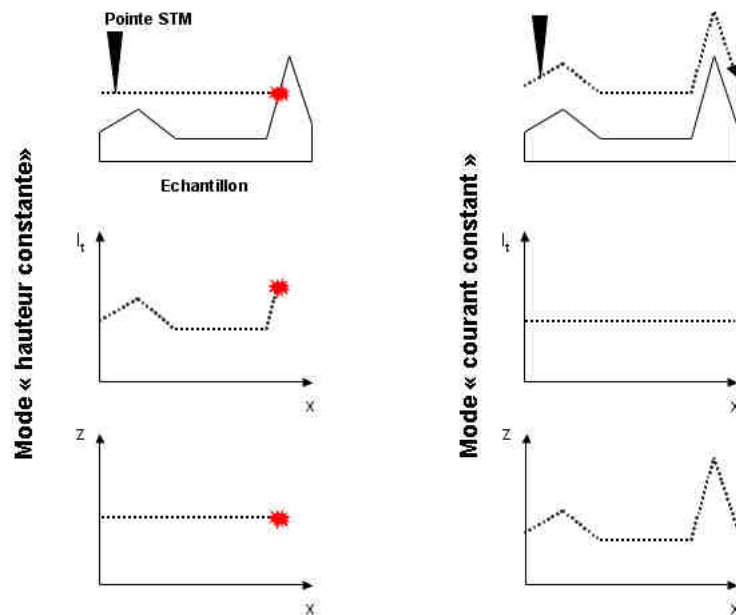


Figure 15. Les modes de fonctionnement d'un STM.

Dans le mode « hauteur constante », la distance de la pointe à l'échantillon est imposée. C'est alors la valeur du courant tunnel qui reflète la topographie de la surface. Ce mode de fonctionnement nécessite des surfaces atomiquement planes. En effet sur une surface trop rugueuse, la pointe ne pourrait pas éviter les obstacles (reliefs ou impuretés), ce qui entraînerait sa dégradation et une perte de résolution.

En mode « courant constant », la boucle de régulation impose une valeur de consigne, asservissant ainsi la pointe en hauteur. Celle-ci est réajustée en chaque point de mesure grâce à la boucle de rétroaction. Le déplacement vertical de la pointe est assuré par l'action de la boucle sur la tension appliquée aux piézoélectriques. C'est donc ici la tension, reliée à la hauteur, qui fournit les informations sur la structure de la surface. Il est important de bien ajuster les paramètres de la boucle de régulation (commandes intégrale et proportionnelle) afin d'éviter des régimes transitoires oscillants pouvant entraîner des dégradations des images.

II.4. STM à l'interface liquide/solide.

La microscopie à effet tunnel a initialement été développée en conditions d'ultra-vide (UHV, ultra high vacuum). Les enceintes à ultra-vide permettent d'atteindre des pressions de l'ordre de 10^{-11} bar, et de s'affranchir ainsi des impuretés de l'atmosphère environnante (ce qui s'avère important dans l'étude de surfaces ordonnées métalliques ou semi-conductrices très réactives). Ces techniques UHV sont néanmoins délicates à mettre en œuvre. Une alternative intéressante réside dans l'utilisation d'une interface liquide/solide dans des conditions ambiantes [37, 45, 46].

II.4.1. Dispositif

Dans une expérience STM à l'interface liquide/solide, la pointe est immergée dans un liquide isolant qui recrée les conditions de l'effet tunnel et balaye la surface en conditions ambiantes. Les 'espèces' à observer sont solubilisées dans une goutte de solvant qui est déposée sur le substrat (Figure 16). Si une partie des molécules reste bien sûr en solution, celles-ci peuvent aussi former une monocouche organisée sur le substrat.

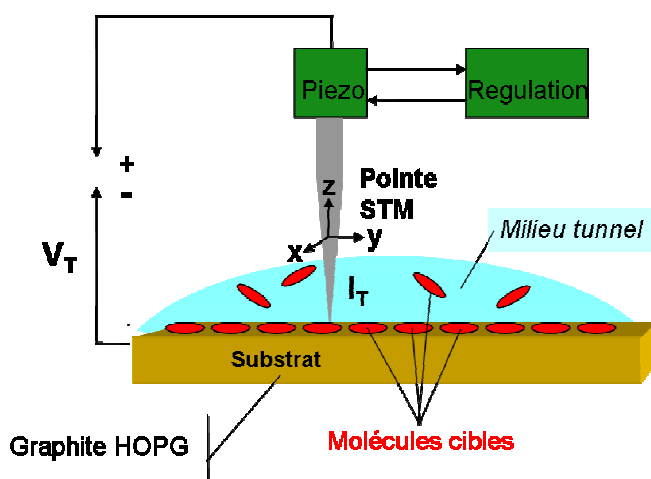


Figure 16. Représentation schématique d'une expérience STM à l'interface liquide/solide.

Cette technique présente de nombreux avantages :

- Une mise en œuvre expérimentale très simplifiée.
- Des conditions particulièrement adaptées à l'étude de molécules organiques, plus 'naturelles' que les conditions UHV. Ceci est d'autant plus pertinent pour les molécules d'origine biologique.
- Une observation *in situ*.
- La possibilité de mesures dynamiques sur la formation de monocouches organisées et les interactions entre le liquide et la surface.

Cependant elle présente aussi quelques restrictions. Les résolutions que l'on peut obtenir restent encore inférieures à celles atteignables en UHV. De plus, le solvant peut influencer l'auto-assemblage des molécules étudiées et se coadsorber ce qui rend les images parfois difficiles à interpréter.

II.4.2. Liquides adaptés.

Le solvant utilisé a un rôle fondamental dans l'expérience STM. Il agit comme isolant tunnel entre la pointe et l'échantillon. Il protège la surface des composants atmosphériques (oxygène, eau, dioxyde de carbone...). Il sert de vecteur au dépôt des molécules qui y sont préalablement solubilisées, et qui peuvent ainsi diffuser librement jusqu'à la surface. Ses caractéristiques physiques et chimiques doivent donc satisfaire un certain nombre de critères :

- Il doit être apolaire, très peu polarisable et être un bon diélectrique afin d'éviter toute conduction ionique entre la pointe et l'échantillon.

- Il doit être faiblement volatil (haute température de vaporisation) pour assurer un temps de manipulation correct.
- Sa viscosité doit être relativement élevée afin d'éviter que la solution ne recouvre tout le porte-échantillon pendant le temps de l'expérience.
- Il doit être inerte chimiquement et non toxique.

Un solvant répondant à l'ensemble de ces critères et largement utilisé en STM à l'interface liquide/solide est le n-tétradécane $C_{14}H_{30}$. Les études STM présentées dans cette thèse ont été systématiquement réalisées dans ce solvant. Alternativement, un deuxième solvant a été utilisé, le phényloctane. Les caractéristiques de ces solvants sont résumées Tableau 1.

Solvant	Température d'ébullition (°C)	Densité (g/mL)	Viscosité à 20°C (cp)
n-tétradécane $C_{14}H_{30}$	253	0.762	2.18
Phényl octane	261	0.858	2.60

Tableau 1. Caractéristiques physiques des solvants utilisés pour les études STM.

II.4.3. Substrats utilisés

Les substrats utilisés en STM doivent répondre à certains critères et doivent être :

- de bons conducteurs
- inertes chimiquement à l'air (et en particulier non oxydables) pour éviter toute modification de surface (non liée aux molécules organiques introduites)
- atomiquement plans sur des surfaces importantes.

Deux substrats adéquats sont largement utilisés en STM, l'or Au(111) (face cristalline (111) du réseau de l'or, face dense où les atomes s'ordonnent suivant un arrangement 2D hexagonal compact) et le graphite HOPG (Highly Oriented Pyrolytic Graphite). Seul ce dernier sera utilisé dans les travaux présentés dans cette thèse.

Le graphite, forme thermodynamiquement stable du carbone, est constitué d'empilements de feuillets plans de carbone, nommés graphènes (Figure 17). Au sein d'un feuillet, les atomes de carbone présentent un arrangement hexagonal. La distance séparant deux atomes voisins est de 1.42Å. La maille du graphite tridimensionnel est de symétrie hexagonale, les feuillets étant liés par liaisons de type Van der Waals et distants verticalement de 3.35Å. Ils s'empilent selon un mode ABA, les atomes de la couche B étant décalés par rapport à ceux de la couche A, de sorte que le centre de chaque hexagone de A est situé au dessus d'un atome de B. A la

surface, les atomes de carbone ne sont donc pas tous équivalents. On distingue ainsi les atomes de type α , situés à la verticale d'un atome de carbone de la couche B, et les atomes de type β situés à la verticale du centre d'un hexagone de la couche B. Le paramètre de maille du réseau hexagonal du graphène vaut ainsi 2.46\AA (Figure 17). La densité électronique locale au niveau des atomes de type β est plus importante que celle des atomes de type α .

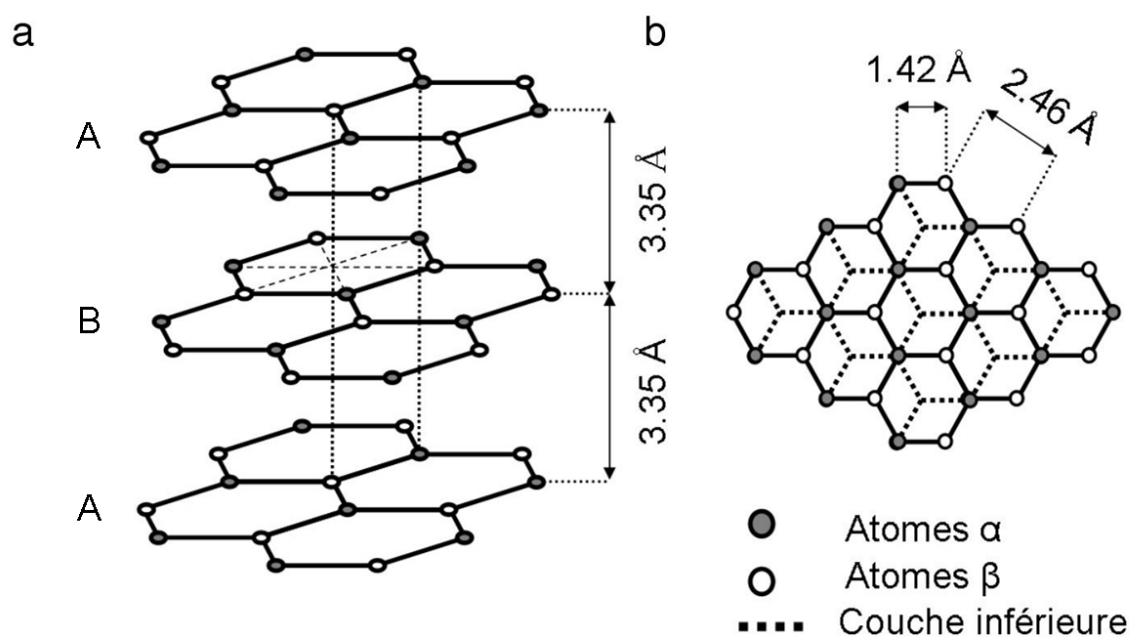


Figure 17. Le graphite. Gauche : structure cristallographique tridimensionnelle. Droite : Vue de dessus de deux feuillets superposés.

Une image STM typique de la surface du graphite est présentée en Figure 18. On y voit un réseau hexagonal de paramètre de maille 2.46\AA , dont chaque point représente un atome. Comme précisé précédemment et dans le cadre de la théorie de Tersoff et Hamann, le STM est une mesure de la densité locale d'états au niveau de Fermi et non une mesure directe de la topographie. Il est ainsi moins sensible aux atomes de type α , pour lesquels la densité d'état est plus faible, qu'aux atomes de type β [47]. Un atome de carbone sur deux est donc imagé et visible comme un point brillant.

L'exemple du graphite reflète bien la différence entre une image topographique (qui ne ferait pas de distinction entre les atomes de types α et β) et l'image STM obtenue. Il faut donc bien garder à l'esprit l'influence des paramètres électroniques dans les interprétations des images obtenues.

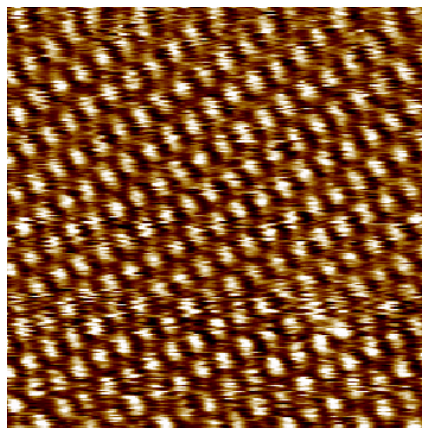


Figure 18. Image STM typique d'une surface de graphite HOPG, seuls les atomes β sont visibles, $3.8 \times 3.8 \text{ nm}^2$, $V=0.204\text{V}$, $I=109\text{pA}$.

Les feuillets de graphite étant faiblement liés les uns aux autres, ils constituent des plans de clivage et sont facilement dissociables. Une surface propre et atomiquement plane formée de terrasses de tailles caractéristiques de l'ordre de $1\mu\text{m}$ est ainsi obtenue facilement par clivage (voir partie expérimentale).

II.4.4. Exploitation des images.

L'interprétation des images STM est délicate en raison des multiples paramètres physiques intervenant dans l'expression du courant tunnel. Ainsi, de nombreux artefacts peuvent intervenir lors de l'observation et fausser les interprétations. En voici quelques exemples :

- les artefacts de bruit (mécanique ou électronique)
- la 'non idéalité' de la pointe (pointes multiples etc.)
- la dérive thermique
- le phénomène de 'moiré' (superposition de deux réseaux périodiques en léger décalage angulaire conduisant pour le graphite à l'observation de superstructures hexagonales).

Il s'agira donc d'être prudent dans les interprétations et de systématiquement s'assurer lors des observations que les images enregistrées ne sont pas perturbées par l'un de ces artefacts.

III. Auto-assemblages de molécules de symétrie ternaire.

Comme précisé dans l'introduction générale, nous nous intéressons dans cette thèse aux propriétés d'auto-assemblages bi-dimensionnels de dérivés de triazatrinaphthylènes (TrisK) (Introduction générale, §III p.9). Ces molécules possèdent un cœur aromatique étendu et sont

de symétrie ternaire C_{3h} . Nous nous focaliserons donc dans cette introduction sur les molécules à cœur aromatique de symétrie ternaire. Ces molécules étant connues pour leurs propriétés de cristaux liquides discotiques, nous commencerons ici par une brève description de ces molécules en tant que mésogènes (molécules au comportement cristal liquide) discotiques. Un état de l'art des études nanométriques d'auto-assemblages sur surfaces métalliques de ces molécules planes de symétrie ternaire sera ensuite présenté.

III.1. Cristaux liquides discotiques de symétrie ternaire.

III.1.1. Cristaux liquides discotiques : ordre.

La découverte de l'état cristal liquide est attribuée à F. Reinitzer en 1888. La forme linéaire en baguette pour les molécules mésogènes a été considérée comme un principe général [48] jusqu'en 1977, date à laquelle S. Chandrasekhar et ses collaborateurs démontrent que des assemblages de molécules en forme de disque ('disk-like' ou discotiques) peuvent également former des mésophases thermotropiques [49]. Si les cristaux liquides font déjà partie intégrante de notre vie quotidienne, notamment dans les affichages numériques, les cristaux liquides discotiques sont d'excellents candidats en tant que nouveaux composants en électronique moléculaire - cellules photovoltaïques [50, 51], diodes organiques (OLED), transistors à effet de champs (OFET) [52] etc. - grâce à leurs phases colonnaires [53].

Les cristaux liquides forment des mésophases, états aux propriétés physiques intermédiaires entre celles des liquides isotropes et des solides cristallins. Ces mésophases possèdent un ordre de position et d'orientation à longue distance mais le désordre liquide subsiste au moins dans une direction spatiale, caractéristique à l'origine de l'anisotropie des propriétés des cristaux liquides. Il existe trois grandes familles de mésophases :

- les smectiques : elles présentent un ordre de position dans une direction et un ordre liquide dans les deux autres. Ces phases sont rares dans les cristaux liquides discotiques.
- Les nématiques : elles ne possèdent pas d'ordre de position des molécules à longue distance mais un ordre d'orientation (Figure 19).
- Les colonnaires : ce sont des phases fluides dans lesquelles les molécules s'empilent pour former des réseaux bidimensionnels de colonnes. Elles possèdent donc un ordre de position dans deux directions et un ordre liquide dans la troisième. Selon la nature de la maille, on en distingue trois types : hexagonale, rectangulaire ou oblique.

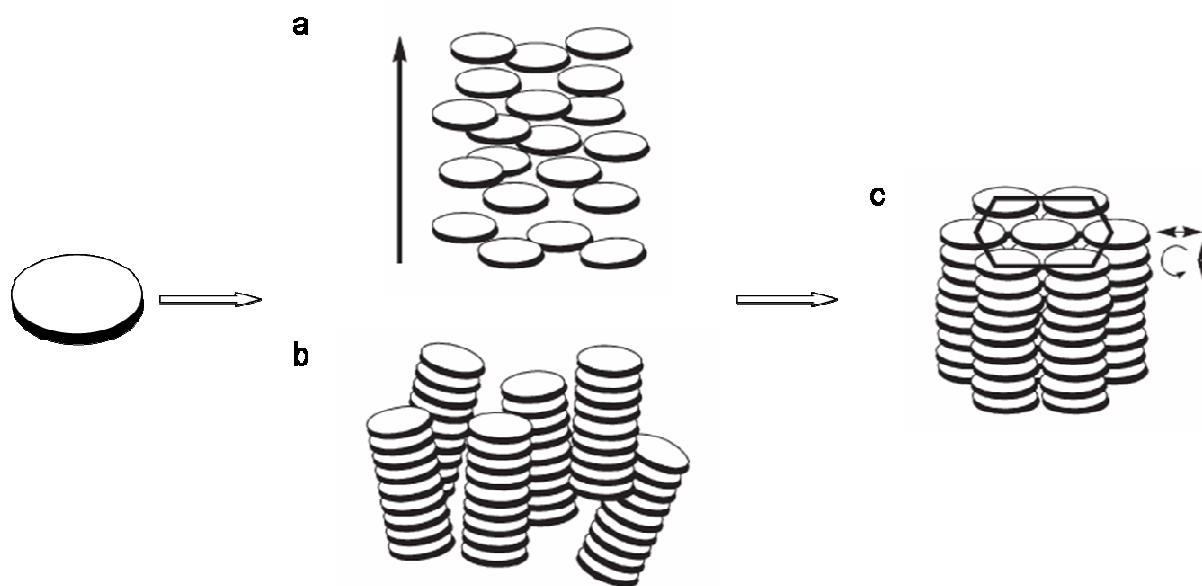


Figure 19. Représentation schématique de mésophases formée par des cristaux liquides discotiques. Gauche : mésogène discotique, milieu : a) phase nématique discotique (N_D), b) phase nématique colonnaire (N_C), droite c): phase colonnaire hexagonale (Col_h).

III.1.2. Mésogènes discotiques

Les cristaux liquides discotiques sont généralement constitués d'un cœur aromatique rigide et plan, entouré de chaînes périphériques flexibles. Il en existe aujourd'hui plus de 3000 dérivant de plus de 50 cœurs différents. Des revues récentes décrivent les structures et les propriétés des familles les plus étudiées [54, 55]. Nous ne présenterons ici que brièvement les grandes familles de mésogènes discotiques plans de symétrie ternaire.

III.1.2.1. *Dérivés de benzène.*

Quelques exemples sont représentés sur la Figure 20. Dans ce paragraphe et les suivants, sauf précision contraire, les substituants R sont classiquement des éthers ou des thioéthers aliphatiques de longueur de chaîne variable. Les grandes classes de dérivés benzéniques sont les hexa-alcyne-benzènes [56] (Figure 20a), les stilbénoïdes [54, 57] (Figure 20b) et les dérivés d'acide trimésique [58] (Figure 20c) ou de phloroglucinol. Ainsi, un dérivé de phloroglucinol développé dans le groupe de M. Lehmann présente une phase colonnaire hexagonale à température ambiante [59].

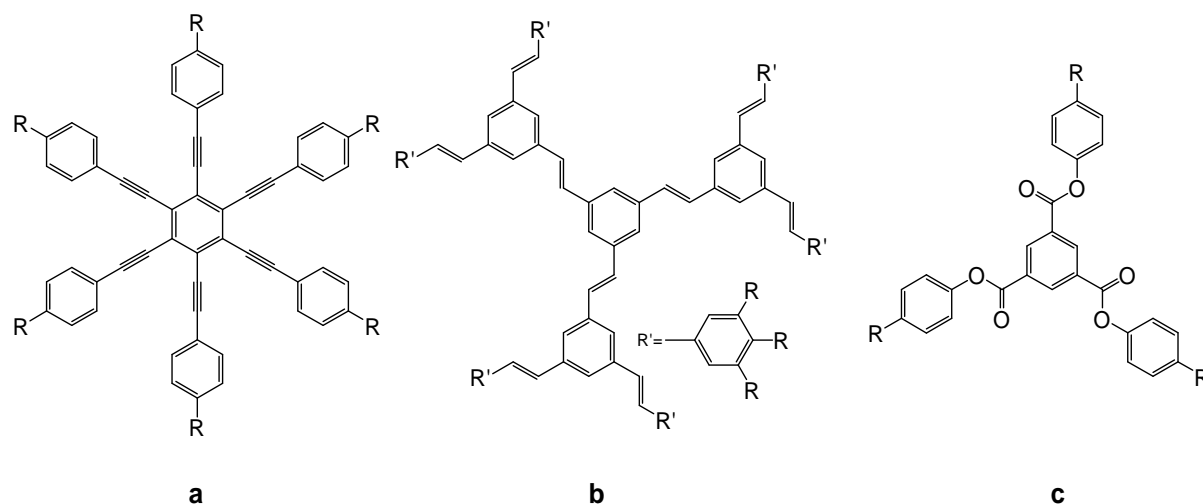


Figure 20 a) dérivés d'alkynylbenzène, b) exemple de stilbénolide, c) dérivés d'acide trimésique ($R = -OC_nH_{2n+1}$ ou $-SC_nH_{2n+1}$).

III.1.2.2. Hydrocarbures poly-aromatiques.

Cette catégorie de composés comporte les cristaux liquides colonnaires les plus étudiés, les triphénylènes (Figure 21a). Leurs dérivés hexa-alkoxy-substitués forment des mésophases colonnaires. Les triphénylènes sont chimiquement stables et facilement accessibles, et leurs mésophases possèdent des propriétés électroniques intéressantes. Leurs propriétés chimiques et mésomorphiques sont détaillées dans des revues récentes [60, 61]. D'autres composés ont été décrits tels que les tris(triphénylèneyle) (Figure 21b) ou les dérivés tri-substitués de décacyclène [62] (Figure 21c). On peut enfin citer les hexa-*peri*-hexabenzocoronènes (HBC, Figure 21d) [63] intensément étudiés notamment pour leurs propriétés de transport de charges, dont les dérivés hexa-alkyl-substitués ($R = -C_{12}H_{25}$) présentent une phase colonnaire sur une gamme de température très large de 339°C [64].

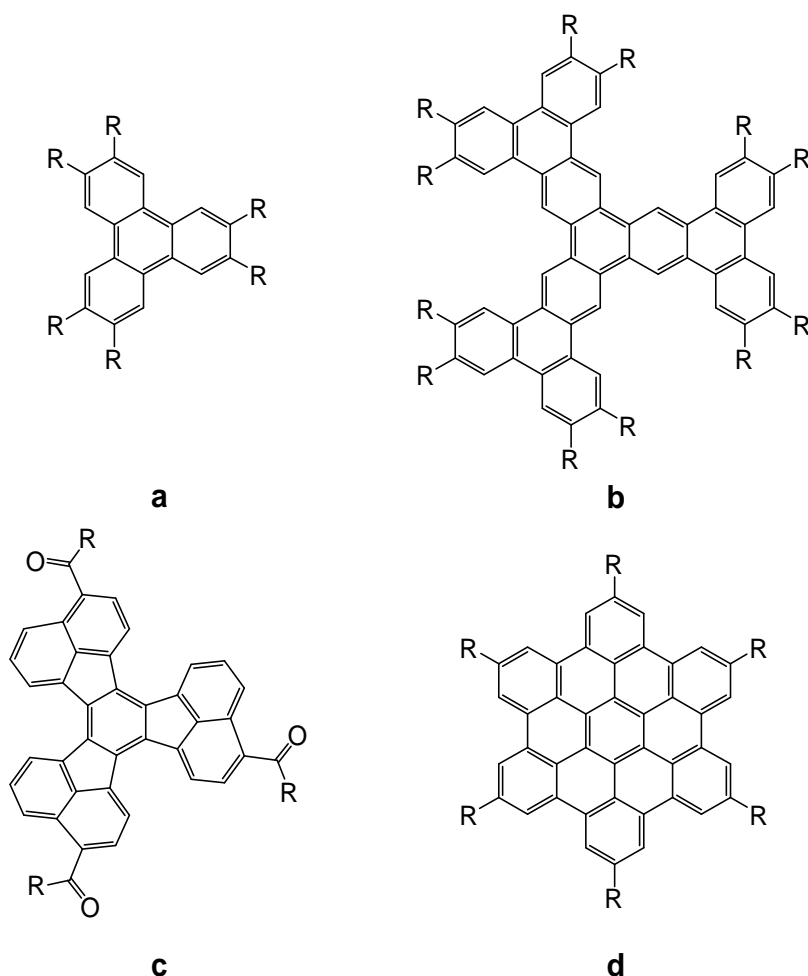


Figure 21. a) dérivés de triphénylènes, b) tris(triphénylèneyle), c) dérivé de dodecacyclic, d) dérivés de HBC ($R = -OC_nH_{2n+1}$ ou $-SC_nH_{2n+1}$).

III.1.2.3. Hétérocycles aromatiques.

La plupart des molécules décrites pour leurs propriétés de cristaux liquides sont riches en électrons et présentent donc des propriétés de conducteurs de type p (voir paragraphe suivant). Des mésogènes discotiques hétéro-aromatiques déficitaires en électrons ont par conséquent été développés pour pallier le manque de matériaux organiques de type n [65]. Des dérivés de triazines ont ainsi été développés. Ceux-ci présentent une phase colonnaire hexagonale dans une gamme de température comprise entre 36 et 149°C (Figure 22a, [66]).

L'extension des triazines a conduit récemment au développement des tricycloquinazolines (Figure 22b) dont les dérivés portant des substituants alkoxy à trois et cinq carbones présentent des phases colonnaires hexagonales [62].

La substitution et/ou l'extension du cœur triphénylène a donné naissance aux azatriphénylènes, et en particulier aux hexaazatriphénylènes (HAT) (Figure 22c) ainsi qu'à la

famille des hexaazatrinaphthylènes (HATNA) (Figure 22d). Dans le cas des HAT, les dérivés alkyles ne forment pas de phases cristal liquide en raison de la répulsion de Coulomb entre les charges partielles négatives portées par les azotes. Dans le cas des hexacarboxamido-HAT, en revanche, l'ordre colonnaire est fortement renforcé par les liaisons hydrogène amides entre molécules voisines au sein des colonnes [67]. Les dérivés HATNA, étudiés par les groupes de Y. Geerts [68, 69] et de H. Hsu [70, 71], se comportent comme des mésogènes discotiques π -déficients et présentent des mésophases colonnaires rectangulaires et hexagonales. Dans les mésophases colonnaires formées par les dérivés thioéthers des HATNA, la répulsion électrostatique due aux charges partielles négatives des azotes intracycliques est compensée par un π -stacking plus efficace du cœur aromatique étendu. Ces dérivés ont aussi été étudiés pour leurs propriétés de transport de charges [72, 73].

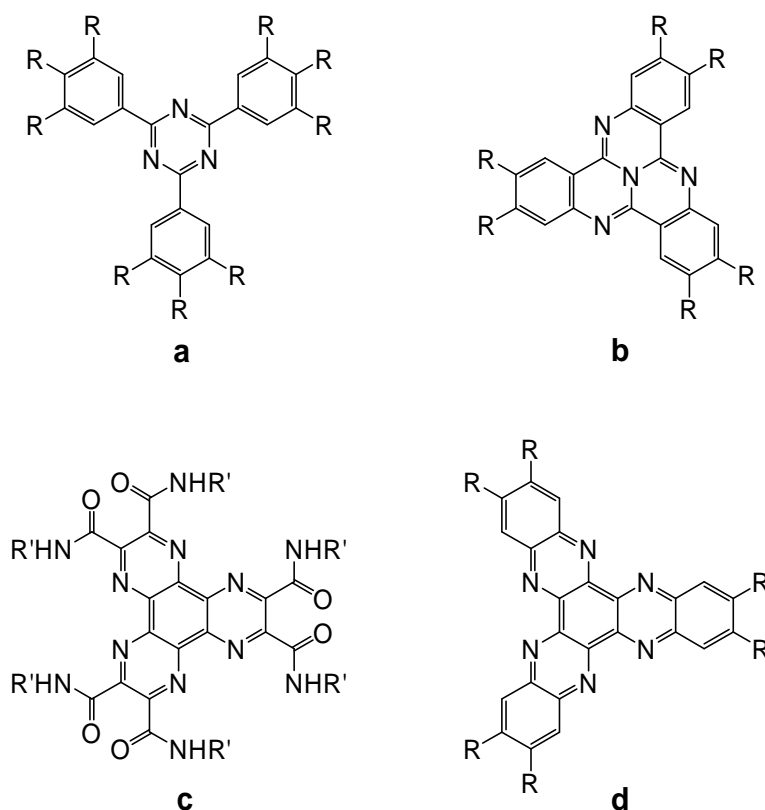


Figure 22. a) dérivés de triazine, b) dérivés de tricycloquinazolines, c) hexacarboxamido-hexaazatriphénylène (HAT) d) famille des hexaazatrinaphthylènes (HATNA) (R= -OC_nH_{2n+1} ou -SC_nH_{2n+1}, R'=-C_nH_{2n+1}).

III.1.3. Propriétés de transport des cristaux liquides discotiques de symétrie ternaire.

L'empilement des molécules discotiques en colonnes avec une distance entre cœurs d'environ 3.5\AA a pour conséquence un possible recouvrement des orbitales $\pi^*-\pi^*$, ce qui induirait une bande de conduction pour le transport de charges selon l'axe de la colonne (Figure 23). Les phases colonnaires peuvent être ainsi considérées comme des semi-conducteurs unidirectionnels selon cet axe [54].

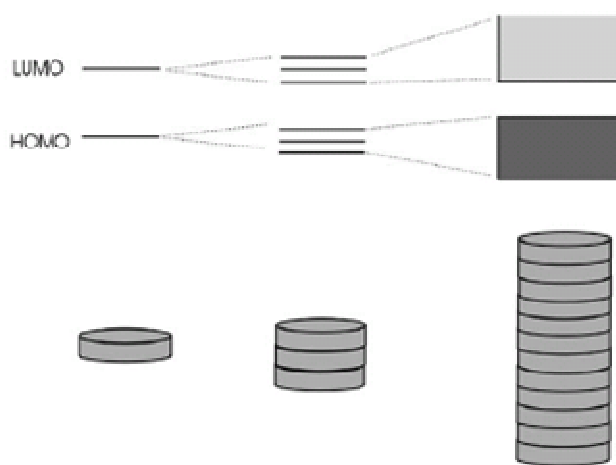


Figure 23. Formation de bande électronique par recouvrements orbitales dans une colonne.

Le transport dans les triphénylènes (dont les dérivés hexa-alkoxy possèdent une forte photoconductivité), les séries HAT et HATNA est proposé selon un mécanisme de ‘hopping’ dans lequel les charges restent en un site avant de sauter dans un autre. La largeur de la bande peut atteindre 1.1eV , proche de celle du graphite ($1.0\text{-}1.4\text{eV}$), et le large recouvrement orbitalaire est reflété par de fortes mobilités de transport de charges ($0.2\text{-}1.3\text{cm}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$) dans les mésophases cristal liquide. Les mésophases formées par les dérivés HATNA sont caractérisées par un ordre faible au sein des colonnes ; il en résulte néanmoins des mobilités comprises entre 0.02 et $0.2\text{ cm}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$, faisant de ces composés de bons transporteurs d’électrons [74, 75].

S’ils ne sont encore que rarement utilisés dans des dispositifs et si leurs propriétés restent encore à optimiser, les cristaux liquides discotiques constituent ainsi une nouvelle génération de semi-conducteurs organiques [53].

III.2. Monocouches de molécules discotiques de symétrie ternaire.

Dans les dispositifs d'applications, les mésophases sont déposées sur des surfaces solides servant d'électrodes. Les interactions à l'interface entre le support et les molécules jouent sans doute un rôle primordial dans les propriétés globales du dispositif. L'étude de l'auto-organisation de monocouches de mésogènes revêt donc un intérêt particulier. Une très grande majorité des molécules présentées précédemment ont été étudiées pour leurs propriétés d'auto-assemblages par microscopie en champ proche. Nous allons ici résumer les résultats de ces études.

III.2.1. Dérivés de benzène.

Les auto-assemblages sur graphite de stilbénoides ont été étudiés. La monocouche formée par un dérivé portant neuf chaînes en C_{12} présente une transition entre une phase hexagonale à 16°C (Figure 24A gauche) et une phase oblique de densité plus élevée après un chauffage à 65°C (Figure 24A droite) [76]. On voit donc apparaître ici un premier paramètre influençant les propriétés d'auto-organisation. Le tristilbène portant cette fois six chaînes dodécyles forme un réseau en nid d'abeille sur HOPG [77]. Celui-ci a été utilisé comme matrice capable de piéger sélectivement des petites molécules par le groupe de F. Charra (Figure 24 , B et C) [78].

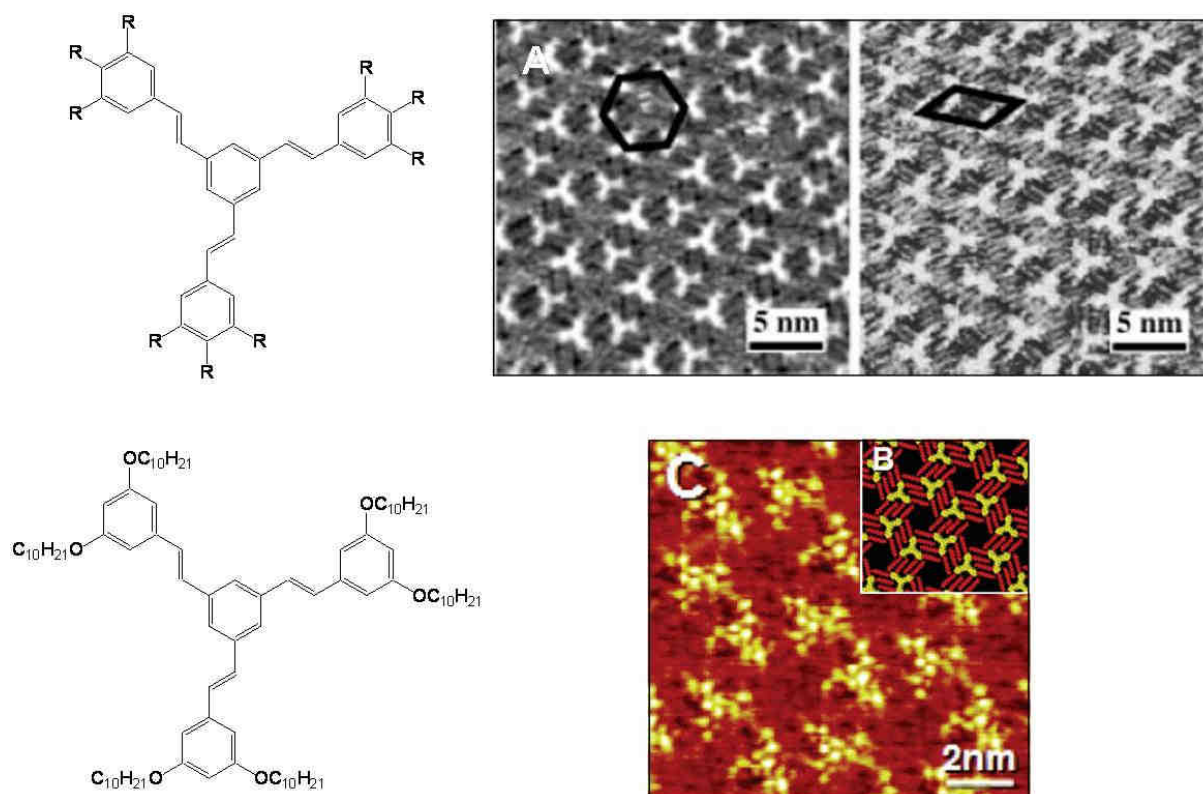


Figure 24. A) Images STM d'une monocouche auto-assemblée de tristilbène ($R = -OC_{12}H_{25}$) sur HOPG $24.0 \times 24.0 \text{ nm}^2$, $V = 0.691 \text{ V}$, $I = 0.932 \text{ nA}$, gauche à 16°C droite à 65°C (tiré de [76]) B) Modèle correspondant à l'image STM C) d'une monocouche auto-assemblée d'un dérivé de tristilbène sur HOPG à $V = -1.0 \text{ V}$, $I = 4.6 \text{ nA}$ (tiré de [78]).

Plusieurs études ont porté sur la formation de monocouches d'acide trimésitique (TMA, acide-1,3,5-tribenzoïque). Sur Cu(100) et Ag(111), des réseaux nids d'abeille sont formés à basse température. En conditions fortement acides, le TMA forme des réseaux 2D sur Au(111), qui peuvent être transformés en d'autres phases en changeant le potentiel de l'électrode [79]. Une variation de la longueur des chaînes portées par des TMA plus étendus entraîne une transition d'un réseau hexagonal à un réseau en colonnes (lamelles) sur Ag(111) dans HClO_4 [80]. Enfin l'acide triyl-tribenzénoïque (BTA) présente, sur Au(111) et sous vide, des transitions de phases nid d'abeille à hexagonale dense avec l'augmentation de la température. Elles sont expliquées par la déprotonation successive des fonctions acides [81].

III.2.2. Hydrocarbures aromatiques.

L'auto-assemblage des hexaalkoxy triphénylènes (Figure 21a) a été décrit en fonction de la longueur des chaînes latérales. Sur le graphite, il a été montré que le mode d'assemblage des chaînes alkyles détermine la géométrie de l'auto-assemblage formé [82]. Une étude systématique pour des longueurs de chaînes impaires révèle qu'une transition structurelle

chirale a lieu lorsque la forme triangulaire des molécules est accentuée en augmentant la longueur de chaîne. Au-delà d'une longueur de neuf carbones, les molécules adoptent une configuration chirale [83]. Une étude sur Au(111) a montré que pour une chaîne constituée de onze carbones, les triphénylènes s'apparient pour former des doubles rangées, différant de la structure hexagonale observée sur HOPG (Figure 25, a) [84, 85]. Pour des longueurs de chaîne paires, plusieurs arrangements existent et pour une chaîne de quatorze carbones, l'alignement des chaînes alkyles conduit à la formation de dimères moléculaires [86].

Le triphénylène étendu - triphénylèneylène (Figure 21b) - forme également un réseau hexagonal à l'interface trichlorobenzène/HOPG [87].

L'étude des décacyclènes (Figure 21c) à l'interface toluène/graphite montre ici aussi que pour des longueurs de chaînes supérieures à quatorze carbones, les molécules ont tendance à s'auto-assembler en dimères. L'ensemble de ces études montre l'importance de l'influence de la longueur des chaînes alkyles sur la symétrie des monocouches auto-organisées [88].

L'auto-assemblage de HBC substitués par des chaînes alkyles (Figure 21d) étudié par STM suscite un fort intérêt. Ces molécules forment des monocouches organisées sur HOPG en solution [63]. Sur une couche de *n*-pentacontane adsorbée sur graphite, des observations de l'adsorption des HBC-C12 à l'interface *n*-tétradécane/substrat montrent des transitions de phases et la formation de trois arrangements α (Figure 25, b), β (dimères) et γ (rangées). Ce polymorphisme 2D est dû aux interactions faibles entre les molécules de HBC et la surface de graphite modifiée par le 'template' d'alcanes [89]. Enfin, des dérivés triangulaires de HBC forment des réseaux en nids d'abeille à l'interface trichlorobenzène/HOPG [90]. Cette étude constitue la première observation de ce type de réseaux avec les molécules hydrocarbonées polyaromatiques (PAH).

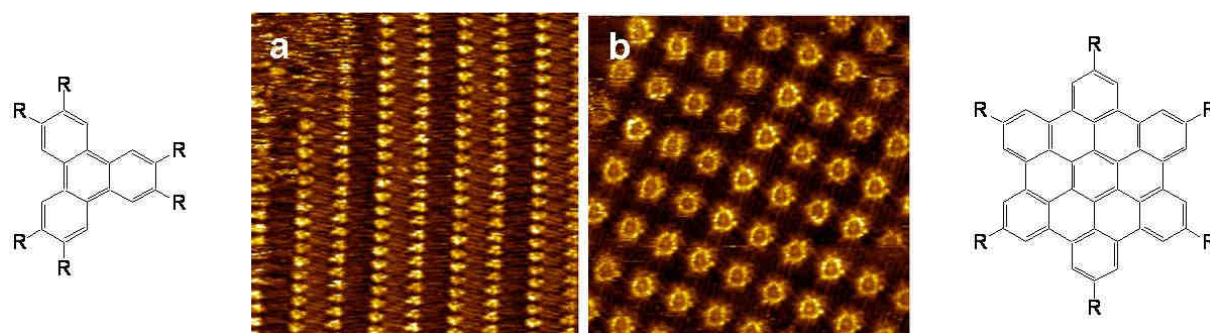


Figure 25. Images STM a) d'un triphénylène ($R=OC_{11}H_{23}$) sur Au(111) (tiré de [84]) et b) de l'arrangement α sur HOPG d'un HBC ($R=C_{12}H_{25}$) (tiré de [89]).

III.2.3. Hétérocycles aromatiques.

Les études relatives aux auto-assemblages bidimensionnels d'hétérocycles aromatiques de symétrie ternaire revêtent un intérêt particulier pour l'interprétation des images obtenues des monocouches formées par les molécules développées dans ce travail de thèse, les TrisKs.

Les hétérocycles aromatiques peu étendus ont été beaucoup étudiés par STM : pyridine, pyrazine, triazine, phénantroline, bipyridine et terpyridine. Pinheiro et al [91] ont montré que la présence d'azotes influence drastiquement la structure des auto-assemblages. La terpyridine adopte ainsi une géométrie 'edge-on' (sur la tranche) sur Au(111), stabilisée par les interactions de π -stacking entre molécules et par la forte interaction azote-or. La pyrazine peut s'adsorber sur une surface d'Au(111) à plat ou verticalement. Sur Cu(111), il a été montré que la pyrazine, la pyridine et la triazine s'adsorbent à plat formant des réseaux hexagonaux [92]. Ici la présence d'azotes détermine les positions relatives molécule/substrat. Sur le graphite HOPG, des dérivés terpyridine à longues chaînes s'assemblent en lamelles (doubles rangées) formant des domaines organisés chiraux. Il n'est pas fait état d'une influence quelconque des atomes d'azote sur l'auto-assemblage [93].

Très peu d'études par STM d'hétérocycles aromatiques étendus ont été réalisées. Un dérivé hexaalkylcarboxamidohexaazatriphénylène (hexaamide HAT, Figure 26) forme une monocouche ordonnée à l'interface tétradécane/HOPG. Les molécules s'assemblent à plat sur le substrat, formant des rangées de dimères antiparallèles. Les niveaux électroniques localisés sur les fonctions amides contribuent significativement au courant tunnel [94].

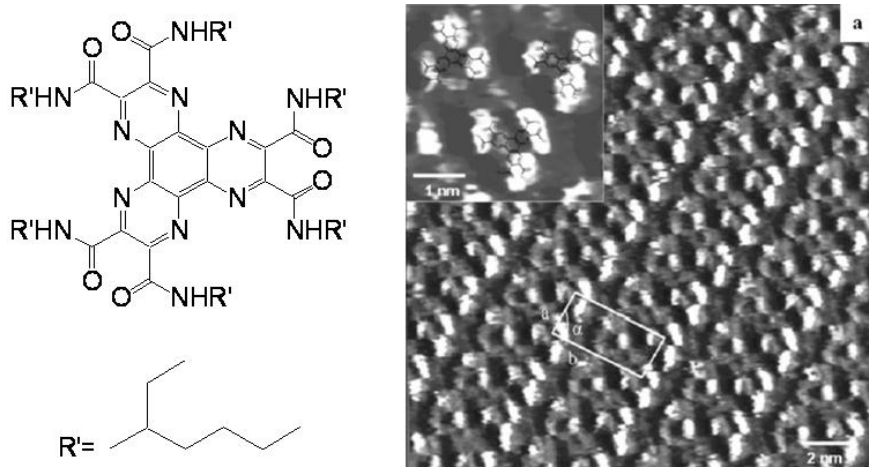


Figure 26. Image STM d'un dérivé de HAT à l'interface tétradécane/HOPG, $V=0.45\text{V}$, $I=50\text{pA}$ (tiré de [94]).

A ce jour, la structure de monocouche auto-assemblée de dérivés HATNA n'a pas encore été décrite. Comme précisé précédemment, ces composés ont été principalement caractérisés dans leurs propriétés de mésogènes discotiques déficients en électrons présentant un fort potentiel pour l'électronique moléculaire.

III.2.4. Autres exemples : Dehydrobenzo[12]annulene ([12]-DBA) et Dehydrobenzo[18]annulene ([18]-DBA).

Ces macrocycles triangulaires représentés sur la Figure 27 ont été étudiés par le groupe de S. De Feyter et F. C. De Schryver.

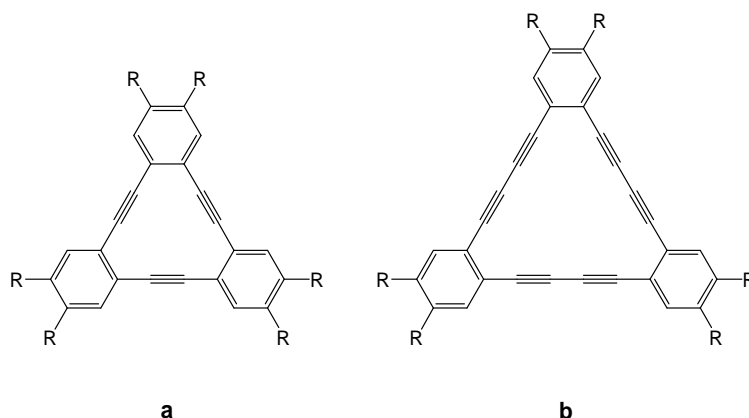


Figure 27. Structures chimiques des a) Dehydrobenzo[12]annulene ([12]-DBA) et b) Dehydrobenzo[18]annulene ([18]-DBA). $R = -OC_nH_{2n+1}$.

Dans le cas des molécules [12]-DBA à l'interface trichlorobenzène/HOPG, la symétrie du cœur aromatique et la localisation des chaînes aliphatiques déterminent la structure du réseau bidimensionnel formé dans lequel ces chaînes sont enchevêtrées (interdigitées). L'augmentation de la longueur des chaînes de dix à seize carbones entraîne une transition d'un réseau en nid d'abeille à des réseaux linéaires attribuée à des interactions molécule-substrat plus fortes [95]. Le solvant et la concentration sont également des paramètres influençant drastiquement la structure des réseaux formés [96]. A l'interface trichlorobenzène ou tétradécane /HOPG, les molécules [18]-DBA forment eux des monocouches auto-organisées linéaires ou en dimères. Par comparaison avec les résultats obtenus dans le cas des [12]-DBA ou des triphénylènes, les auteurs déduisent que la largeur du cœur aromatique des [18]-DBA n'est pas favorable à l'enchevêtrement des chaînes aliphatiques pour la formation de réseaux bidimensionnels organisés [97].

Comme nous l'avons vu dans ces quelques exemples, de nombreux paramètres peuvent influencer fortement les propriétés d'auto-assemblages de molécules discotiques : la température, le nombre et la longueur des chaînes alkyles etc. De plus peu d'études ont été effectuées sur l'auto-organisation sur surfaces de discotiques étendus comportant des hétéroatomes. A travers les molécules étudiées dans ce travail de thèse, nous essaierons donc de dégager des relations entre la structure chimique des molécules et celle des monocouches formées sur graphite HOPG.

Chapitre 1 : Triazatrinaphthylènes (TrisKs): structure et synthèse

Comme nous l'avons vu précédemment, les molécules aromatiques planes étendues sont intensément étudiées dans le domaine des matériaux pour leurs propriétés potentielles de cristaux liquides, de composants organiques actifs en électronique moléculaire et d'auto-assemblage. Il est particulièrement important de comprendre les phénomènes gouvernant l'auto-organisation de ces molécules organiques afin de former des arrangements supramoléculaires stables de façon contrôlée.

Dans ce contexte, nous avons développé une famille de triazatrinaphthylènes ou TrisKs. Dans ce chapitre, après une description détaillée de la structure chimique des TrisKs, nous présenterons les travaux antérieurs à cette thèse et les résultats obtenus avec le premier dérivé synthétisé de cette famille de molécules. Nous décrirons ensuite la synthèse des dérivés étudiés et leurs propriétés d'auto-assemblages sur graphite étudiées par STM à l'interface liquide-solide.

I. Les TrisKs, structure.

Les TrisKs possèdent une surface aromatique conjuguée étendue composée de sept cycles aromatiques. Ces molécules comportent un cycle benzénique central entouré de trois motifs quinoline constituant trois branches. Elles sont prochirales car, de par la position des azotes intra-cycliques, elles présentent deux faces énantiotopes. Ce sont des molécules discotiques caractérisées par une symétrie C_{3h} : elles possèdent en effet un axe de symétrie C_3 et un plan de symétrie horizontal σ_h . Leur structure générale, la numérotation utilisée pour leur nomenclature ainsi que les distances caractéristiques dans ces molécules sont représentées en Figure 28.

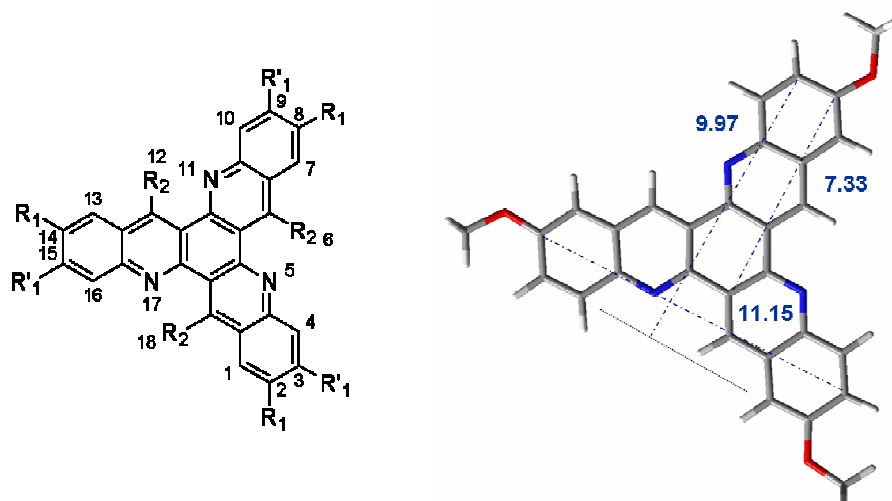


Figure 28. Gauche: structure chimique générale des TrisKs et numérotation utilisée pour la nomenclature. Droite : distances caractéristiques dans une molécule (angströms).

Le cœur aromatique des TrisKs peut être fonctionnalisé. Nous avons réalisé des substitutions aux extrémités des branches (substituants R₁ et R'₁) et en position *para* des azotes intracycliques (substituants R₂) comme nous le verrons au paragraphe 3 de ce chapitre.

II. Travaux antérieurs

Le premier dérivé de la famille des TrisKs, le 2,8,14-triméthyl-5,11,17-triazatrinaphthylène (R₁=-CH₃, R'₁=R₃=H) **8b** a été synthétisé au laboratoire. La synthèse de ce composé a été réalisée selon un protocole à quatre étapes basée sur la N-arylation du 1,3,5-tribromobenzène par l'acide 5-méthyl-anthranilique catalysée au palladium utilisant le système Pd(OAc)₂/BINAP [98]. Les études STM de l'auto-assemblage de ce composé sur graphite ont été réalisées dans le groupe de D. Fichou (CEA Saclay). Ce TrisK forme une monocouche présentant des domaines très ordonnés s'étendant sur plusieurs dizaines de nanomètres. Les molécules forment un arrangement hexagonal (Figure 29b) où la forme triangulaire du cœur aromatique est clairement visible. La maille élémentaire du réseau a pour paramètres a=b=1.5nm. De manière surprenante, un réseau hexagonal de points de contraste brillant est visible sur la Figure 29b, chaque point lumineux étant localisé à l'extrémité d'une des branches de la molécule. Ces points de contraste brillant correspondent à de forts courants tunnels. Ils ont été interprétés en termes d'asymétrie des orbitales moléculaires du TrisK au niveau des groupes méthyles et d'interactions molécule-substrat par des sites d'adsorption non équivalents de la molécule sur la surface de graphite [98].

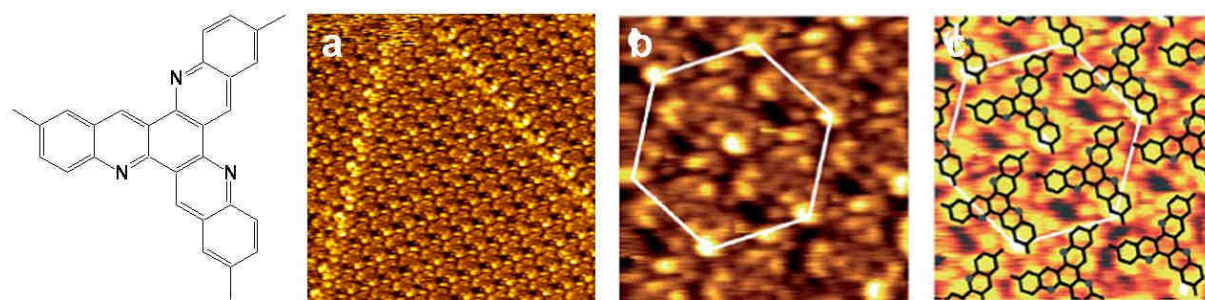


Figure 29. Images STM de la monocouche formée par le 2,8,14-triméthyl-5,11,17-triazatrinaphthylène **8b** enregistrées à l'interface HOPG/n-tétradécane. (a) 20.2 x 20.2 nm², U_t=177 mV, I_t=12 pA, (b) image haute résolution 4.4 x 4.4 nm², U_t=177 mV, I_t=15 pA révélant le réseau hexagonal de points brillants, (c) possible arrangement de la molécule sur le graphite.

III. Synthèse des Triazatrinaphthylènes.

Ces résultats très encourageants nous ont poussés à développer cette série pour étudier et éventuellement mettre en évidence de nouvelles propriétés d'auto-assemblage. La prochiralité de la molécule prototype pouvait laisser attendre une induction de chiralité dans les domaines. En prenant le TrisK **8b** comme modèle, nous avons ainsi développé la synthèse de nouveaux dérivés en jouant sur les substituants R₁ et R'₁. Ces synthèses sont détaillées en présentant d'une part les TrisKs tri-substitués (R₁ varie, R'₁=H) et d'autre part les TrisKs hexa-substitués (R₁=R'₁≠H).

III.1. Synthèse des TrisKs trisubstitués (R'₁=H, R₁ variable)

Plusieurs TrisKs tri-substitués en position R₁ ont été synthétisés. Nous nous sommes particulièrement intéressés à certaines fonctionnalisations :

- R₁=-H : nous avons obtenu ainsi le TrisK le plus simple, constitué uniquement du cœur aromatique. Il nous permet d'évaluer l'effet des groupements méthyles.
- R₁=-CH₃ : le premier dérivé étudié a été resynthétisé en vue de fonctionnalisations ultérieures (soumis à une oxydation des méthyles ou à une bromation).
- R₁=-OC_nH_{2n+1} (n=1, 3, 10, 12, 16): des chaînes alkoxy de longueurs variables ont été introduites de façon à améliorer la solubilité en milieu organique et les propriétés d'auto-assemblage.

Le protocole développé pour la synthèse des TrisKs est inspiré de la méthode utilisée pour préparer le premier dérivé de la famille, **8b**, que nous avons optimisée en accord avec les travaux réalisés sur la synthèse des quinacridines [99] (voir Partie 2, Chapitre 3 §III). L'étape

clef de la synthèse réside dans la N-arylation du 1,3,5-tribromobenzène. Initialement réalisée directement avec le dérivé acide anthranilique, l'utilisation de la forme ester a montré une amélioration remarquable en termes de rendements. Le système catalytique choisi pour cette réaction de condensation est $\text{Pd}(\text{OAc})_2 / \text{P}(\text{tBu})_3$, qui permet la tris-N-arylation attendue avec d'excellents rendements (Schéma 2).

Il faut donc synthétiser les dérivés ester des acides anthraniliques requis pour cette condensation (Schéma 1). L'anthranilate de méthyle ($\text{R}_1=\text{H}$) est disponible commercialement. Le 2-amino-5-méthyl benzoate de méthyle **4b** est obtenu avec un rendement de 88% par simple estérification de l'acide correspondant. Le 2-amino-5-méthoxy benzoate de méthyle **4c** est obtenu en trois étapes à partir de l'acide 2-nitro-5-chloro-benzoïque [100]. Ce dernier, chauffé à reflux dans un mélange KOH/méthanol, conduit de manière quasi-quantitative à l'acide 2-nitro-5-méthoxy-benzoïque **2c** qui est estérifié dans le méthanol en présence d'un excès d'acide sulfurique. Le 2-nitro-5-méthoxy-benzoate de méthyle obtenu est enfin réduit par du dihydrogène en présence de palladium sur charbon pour conduire au 5-méthoxy-anthranilate de méthyle **4c** voulu avec un rendement global de 84%.

Les 5-alkoxy-anthranilate de méthyle à chaînes plus longues sont synthétisés de la manière suivante : l'acide 2-nitro-5-chloro-benzoïque est converti quantitativement en acide 2-nitro-5-hydroxy-benzoïque par reflux dans la soude. L'introduction du groupe alkyle sur cet intermédiaire (éthérification/estérification) par les bromo-alcanes choisis ($\text{C}_n\text{H}_{2n+1}\text{Br}$, $n=3, 10, 12, 16$) dans le DMF fournit les dérivés **1d-g** avec de bons rendements compris entre 95 et 100% (Schéma 1). Ces composés sont ensuite saponifiés dans un mélange acétone/soude puis estérifiés en esters méthyliques dans le méthanol pour conduire aux 2-nitro-5-alkoxy-benzoates de méthyle **3d-g**. Enfin, après hydrogénation de ces intermédiaires, les dérivés 2-amino-5-alkoxy-benzoates de méthyle **4d-g** voulus sont obtenus avec des rendements sur cinq étapes compris entre 50 et 73% (Schéma 1 et Tableau 2). D'autres stratégies synthétiques plus convergentes ont été envisagées et sont discutées à la fin de ce paragraphe.

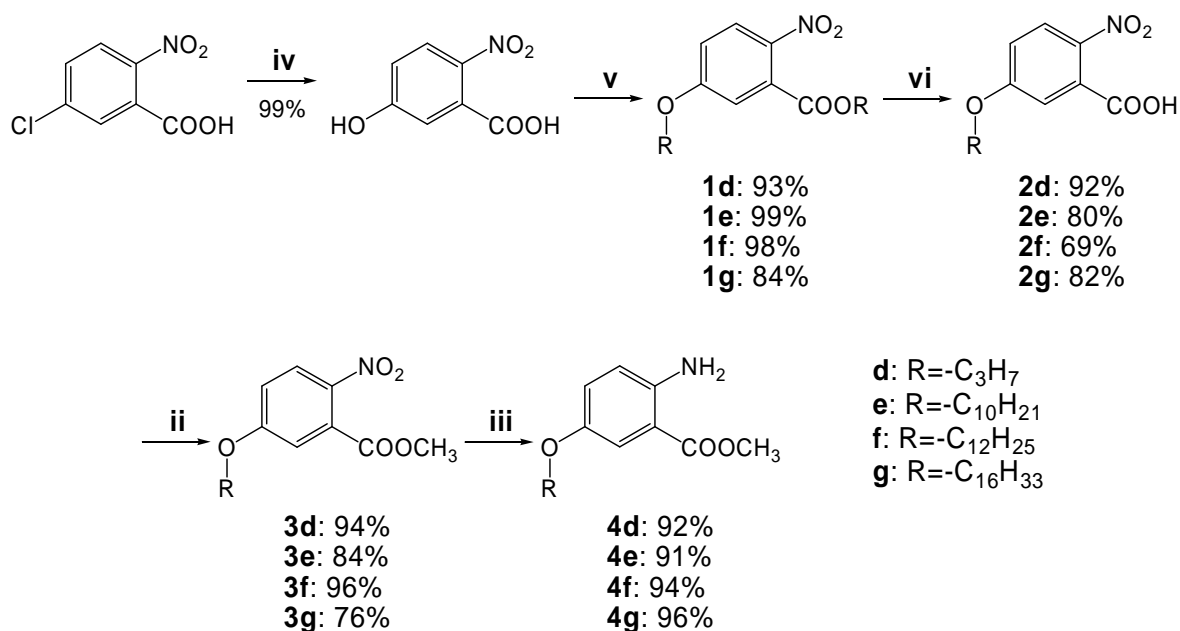
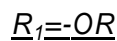
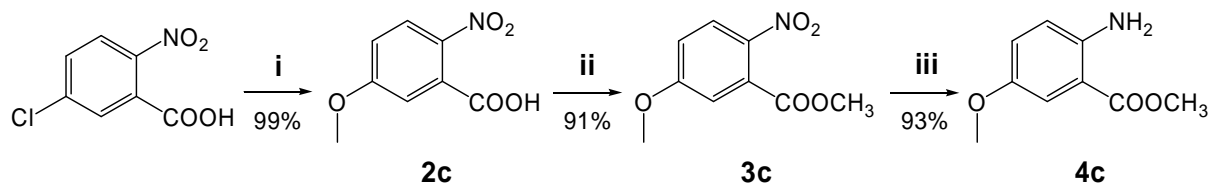
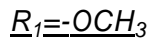
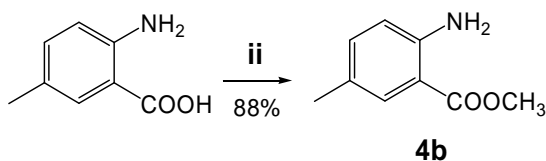
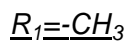


Schéma 1. Synthèse générale des dérivés 2-amino-benzoate de méthyle.

Conditions et réactifs: i. KOH, MeOH, reflux, 28hrs, ii. MeOH, H₂SO₄, reflux, 16hrs, iii. H₂, Pd/C 30%wt, EtOAc/MeOH 1/1, iv. NaOH, reflux, 72hrs, v. C_nH_{2n+1}Br 2.1equiv., K₂CO₃ 2.3equiv., DMF, 75°C, 24hrs, vi. NaOH 5%, acétone, reflux, 16hrs.

Les réactions d'aminations aryliques du 1,3,5-tribromobenzène par les esters anthraniliques **4a-g** réalisées dans le toluène en présence de carbonate de césium (cinq équivalents) et catalysées par le système acétate de palladium (6% molaire), tri-*tert*-butyl-phosphine (18% molaire) fournissent les produits de tri-condensation attendus **5a-g** avec d'excellents rendements (Schéma 2). Ces triesters sont obtenus pour la plupart avec une grande pureté par simple précipitation dans un mélange de solvants adéquats (acétate d'éthyle/hexane en différentes proportions, voir partie expérimentale). Ces derniers sont ensuite saponifiés dans un mélange acétone/soude au reflux pour conduire aux dérivés triacides correspondants **6a-g**.

Le passage aux esters pour la réaction de couplage entraîne une nette augmentation des rendements pour l'obtention des dérivés triacides par rapport à la méthode employée précédemment. En effet, les dérivés **6a-g** sont ici obtenus à partir des composés **4a-g** en deux étapes avec des rendements compris entre 80 et 99%. Le composé **6b** est obtenu par cette méthode avec un rendement global de 87% contre 34% avec le protocole précédent.

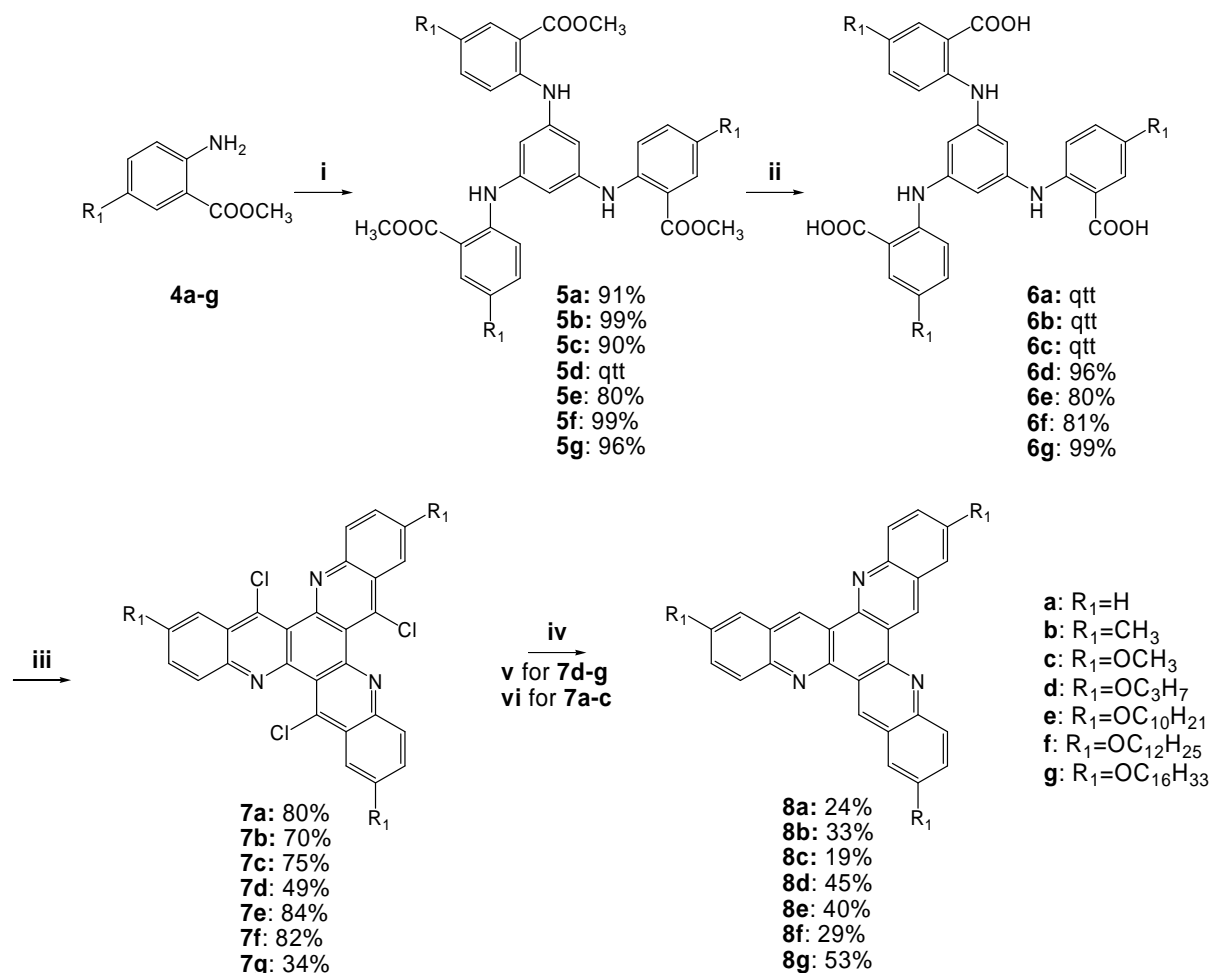


Schéma 2. Synthèse générale des TrisKs trisubstitués.

Conditions et réactifs: i. 1,3,5-tribromobenzène, Pd(OAc)₂, P(tBu)₃, Cs₂CO₃, toluène, reflux, 72hrs, ii. NaOH 5%, acétone, reflux, 16hrs, iii. POCl₃, reflux, iv. LiAlH₄, THF, reflux, 16hrs, v. FeCl₃.6H₂O, EtOH/H₂O 2/1, reflux, 16hrs, vi. Triphenylcarbénium tétrafluoroborate 3.5equiv., AcOH, reflux, 16hrs.

Les cyclisations permettant de former le cœur aromatique Trisk et d'aboutir à des dérivés substitués par des chlores en position *para* des azotes (R₂=Cl) sont effectuées dans l'oxychlorure de phosphore P(O)Cl₃. Ces réactions de cyclisations sont très dépendantes de la nature du substituant R₁ et en particulier de son caractère donneur ou attracteur. Un mécanisme pour cette réaction de cyclisation au P(O)Cl₃ est proposé ci dessous à partir de nos

observations expérimentales. A partir de nos différentes tentatives et observations, nous pouvons proposer deux conclusions générales pour cette réaction au $P(O)Cl_3$:

- Cette réaction procède en deux temps. La première étape est assez rapide et conduit par trois cyclisations (a priori consécutives et non simultanées) à la formation d'un intermédiaire oxygéné que nous appellerons 'trisacridone'.
- La seconde étape est la formation du dérivé trichloré voulu à partir de cet intermédiaire 'trisacridone'. C'est cette étape qui est très dépendante du pouvoir donneur du substituant R_1 . Plus ce substituant a un fort caractère donneur ($OC_nH_{2n+1} > CH_3 > H$), plus cette étape est lente et limitante. Ceci est à rapprocher de l'halogénéation de phénols. Il est ainsi connu que cette réaction ne fonctionne que sur des phénols activés [101].

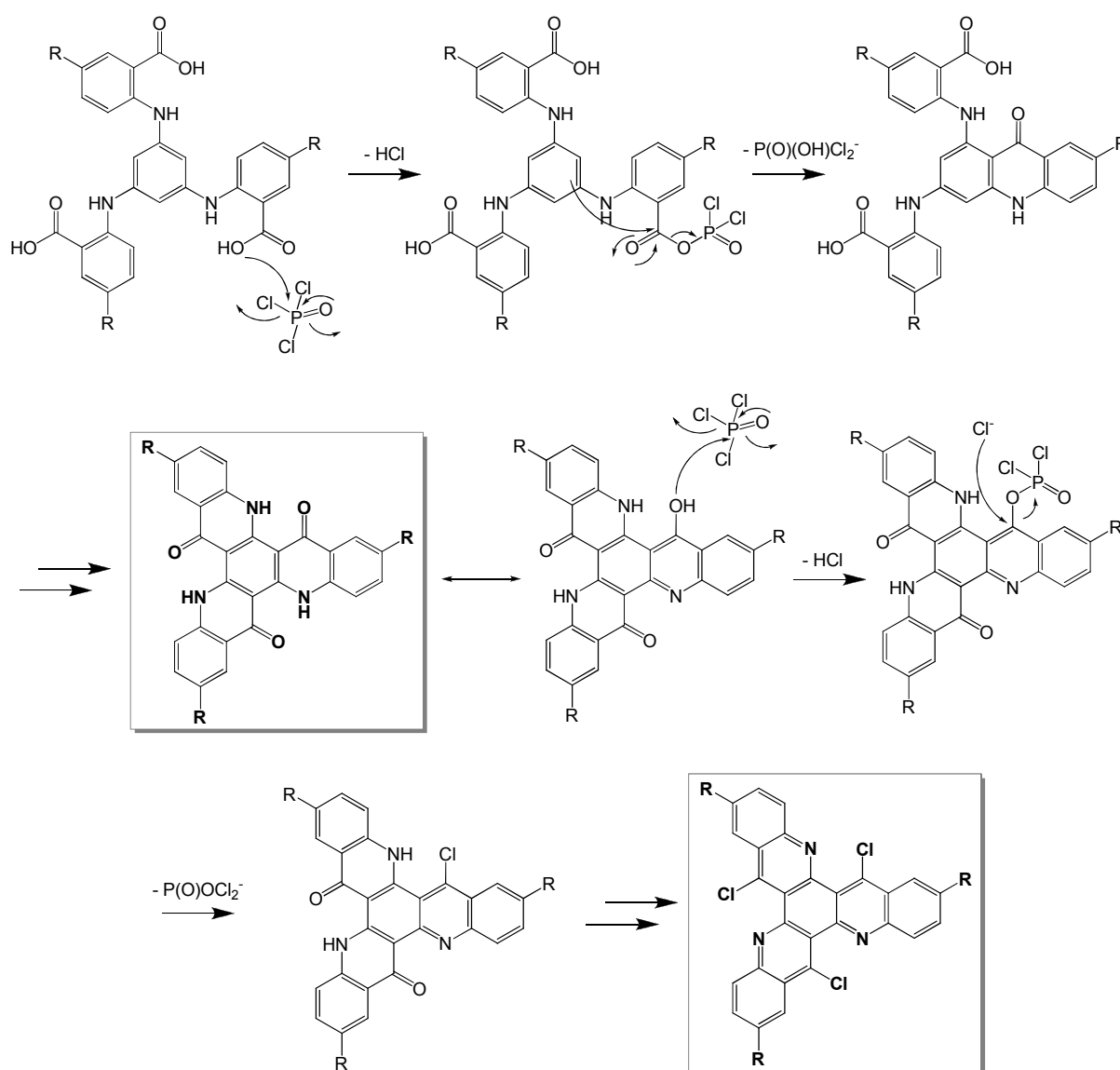


Schéma 3. Mécanisme proposé pour la réaction de cyclisation au $P(O)Cl_3$.

Ainsi, quand R_1 est un hydrogène (**6a**) ou un groupement méthyle (**6b**), la réaction est complète après un reflux de 16 heures et seuls les dérivés trichlorés **7a** ou **7b** sont obtenus. Dans le cas des dérivés alkoxy (**6c-g**, $R_1 = -OC_nH_{2n+1}$), un reflux de 72 heures est nécessaire pour obtenir le même résultat. De plus, les intermédiaires ‘trisacridone’ seuls sont isolés après 5 heures de reflux, et des temps de réaction intermédiaires conduisent à des mélanges inséparables des différents produits possibles (identification par spectrométrie de masse). Les TrisKs trichlorés **7a-g** sont ainsi obtenus dans des conditions et avec des rendements très variables (Schéma 2 et Tableau 2).

Pour obtenir les TrisKs hydrogénés correspondants ($R_2 = H$), les TrisKs **7a-g** sont tout d’abord réduits par $LiAlH_4$ au reflux du THF. Cette réduction forme des mélanges inséparables du produit attendu **8** et des dérivés hémi-réduits au niveau des carbones en position *para* des azotes. Une dernière étape de réoxydation/réaromatisation est donc nécessaire. Plusieurs méthodes ont été testées sans succès pour améliorer l’étape de réduction des chlores et s’affranchir ainsi de l’hémi-réduction et donc de cette dernière étape d’oxydation (traitement au $SmI_2/HMPA$ [99], échange halogène/métal par du BuLi, traitement par la *p*-toluenesulfonylhydrazide).

Deux méthodes de réoxydation ont été employées selon les dérivés. Dans le cas des TrisKs **7a**, **7b** et **7c**, la réaction d’oxydation est effectuée par le triphénylcarbénium tétrafluoroborate ($TrBF_4$) dans l’acide acétique. Cette solution s’est avérée une alternative très intéressante au chlorure ferrique ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) classiquement utilisé dans le cas des quinacridines (*cf* Partie 2, Chapitre 3 §III) et dont le traitement est laborieux. Après traitement par le $TrBF_4$, les TrisKs **8a**, **8b** et **8c** sont obtenus avec une pureté satisfaisante par un lavage intensif à l’heptane qui élimine les dérivés de trityle formés lors de la réaction. Bien que très peu solubles dans la plupart des solvants organiques, les TrisKs **8a et b** sont purifiés par chromatographie sur colonne de gel de silice (avec du dichlorométhane comme éluant) afin d’améliorer leur degré de pureté.

En raison de leur bien meilleure solubilité en solvants organiques, l’utilisation du $TrBF_4$ n’est pas appropriée pour les TrisKs portant des substituants R_1 alkoxy plus longs (TrisKs **7d-g**). En effet, le lavage à l’heptane ne peut pas être utilisé ici, empêchant l’élimination des produits trityles. Par conséquent, les purifications par chromatographie sur colonne de gel de silice sont longues et plus difficiles. L’oxydation a donc été réalisée par un traitement au chlorure de fer en excès (9 équivalents). Ils sont obtenus avec un haut degré de pureté après chromatographie sur colonnes de gel de silice avec des rendements variables sur ces deux dernières étapes.

Nous avons donc synthétisé par ce protocole quatorze dérivés TrisKs : sept portant des chlores en substituants R_2 (**7a-g**) et les sept correspondant portant des hydrogènes en cette position (**8a-g**). Les rendements pour la synthèse globale de ces composés sont résumés dans le Tableau 2.

	a	b	c	d	e	f	g
Dérivé d'anthranilate 4	-	88	84	73	60	61	50
TrisK chlorés 7 ($R_2=Cl$)	73	61	57	34	22	40	16
TrisK hydrogénés 8 ($R_1=Cl$)	17	20	11	16	9	11	9

Tableau 2. Rendements finaux (%) obtenus dans la synthèse des dérivés TrisKs trisubstitués.

Remarques :

- Dans le cas des chaînes alkoxy longues ($R_1=OC_nH_{2n+1}$, $n \geq 10$), nous avons envisagé de réaliser la réaction de couplage au palladium sur les esters 'longs' et ainsi de s'affranchir des deux étapes de saponification et de re-estérification en ester méthylique dans la préparation des précurseurs **4**. Prenons le cas de la chaîne à douze carbones: le composé **1f** a été hydrogéné pour conduire au 2-amino-5-dodécyloxy-benzoate de dodécyle noté **4f***. Réalisée à petite échelle, la trisamination de **4f*** sur le tribromobenzène conduit au triester voulu que nous noterons **5f*** avec un très bon rendement de 96% (Schéma 4). Cependant, à plus grande échelle et malgré des temps de réaction très longs, nous n'avons jamais atteint la conversion totale des produits de départ. Cette stratégie a donc été abandonnée au profit de celle décrite plus haut.

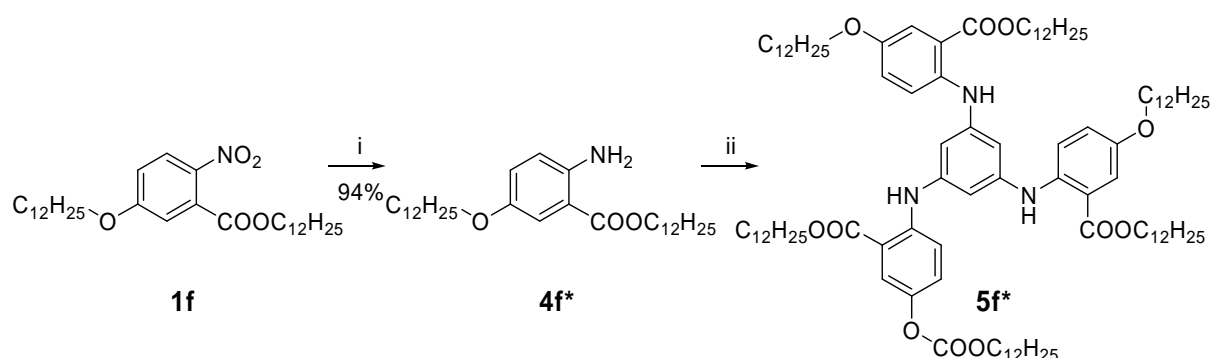


Schéma 4. Stratégie initiale envisagée pour la synthèse des TrisKs trisubstitués à longues chaînes.

- La synthèse des TrisKs à longues chaînes alkoxy **8d-g** avait initialement été envisagée à partir du TrisK **8c** par clivage des groupements méthoxy puis fonctionnalisation par les chaînes alkyles par une réaction de Williamson ou de Mitsunobu par exemple. De nombreux

essais de déméthylation ont été effectués sans succès avec les réactifs usuels comme BBr_3 , chlorure de triméthylsilyle/iodure de sodium ou encore acide bromhydrique 48% au reflux (pendant une semaine !) [102]. Le produit recherché n'est obtenu qu'en faible quantité en mélange avec les deux intermédiaires partiellement déméthylés et le produit de départ **8c** très largement majoritaire. Les meilleurs résultats ont été obtenus par réaction avec de l'acide chlorhydrique 12N et du chlorure de benzyl-triéthyl-ammonium en tube scellé à 120°C pendant une semaine. Dans ces conditions particulièrement drastiques, le produit de départ a disparu et le produit recherché est formé mais le produit mono-méthylé reste majoritaire. Cette stratégie a donc été abandonnée, nous conduisant à utiliser les protocoles présentés ci-dessus dans lesquels les chaînes alkyles sont introduites dès la deuxième étape de la synthèse. Il serait toutefois intéressant de trouver un groupement protecteur stable dans les conditions de synthèse assez dures employées (successivement hydrogénation, conditions basiques, puis fortement acides, réduction et enfin oxydation) mais relativement aisé à déprotéger. Le groupement iso-propyloxy pourrait être un bon candidat [102, 103].

III.2. Synthèse des TrisKs hexasubstitués ($\text{R}'_1=\text{R}_1\neq\text{H}$).

Les cristaux liquides portent généralement un nombre de substituants alkyles important typiquement supérieur ou égal à 6. Pour cette raison, des dérivés de TrisKs portant des substituants R_1 et R'_1 différents d'un hydrogène ont également été synthétisés. Ainsi le TrisK portant six groupements méthoxy **8h** ($\text{R}_1=\text{R}'_1=-\text{OCH}_3$) a été préparé à partir du 2-amino-4,5-diméthoxy-benzoate de méthyle commercial **4h** par le protocole décrit au paragraphe précédent. Il est intéressant de noter que, dans ce cas, la réaction de cyclisation n'est jamais complète même après six jours de reflux. Le TrisK trichloré minoritaire **7h** peut cependant être facilement isolé du mélange réactionnel. En effet ce dernier est plus soluble dans les solvants organiques que les dérivés acridones qui précipitent lors du traitement. Le TrisK **8h** est finalement obtenu avec un rendement global faible (7.4% sur cinq étapes) (Schéma 6).

Le dérivé hexa-substitué portant six chaînes à douze carbones a également été synthétisé. L'intérêt réside ici dans la synthèse du précurseur 2-amino-4,5-didocélyoxy-benzoate de méthyle **4i** (Schéma 10c), la suite de la synthèse étant identique aux précédentes. La première stratégie employée [104] a consisté à partir du dérivé **4h**. Celui-ci a été acétylé par le chlorure d'acétyle en présence de pyridine dans le THF pour conduire au 2-acétamido-4,5-diméthoxy-benzoate de méthyle avec un rendement de 96%. La déméthylation qui constitue l'étape suivante est ici encore un échec. Un mélange du produit désiré avec le produit dé-acétylé

majoritaire est obtenu (Schéma 5a). Dans la seconde stratégie appliquée, l'acide 3,4-dihydroxybenzoïque est tris-alkylé quantitativement par le bromododécane (Schéma 5b). La nitration du 3,4-didodécyloxybenzoate de dodécyle obtenu conduit exclusivement à un produit di-nitré. Enfin, la dernière stratégie envisagée a permis la synthèse du précurseur désiré **4i** : l'acide 2-nitro-4,5-diméthoxy-benzoïque commercial est déméthylé par BBr_3 . L'intermédiaire acide 2-nitro-4,5-hydroxy-benzoïque obtenu est tri-alkylé par le bromododécane sans purification préalable. Le composé **1i** est ainsi synthétisé avec un rendement sur deux étapes de 25%. La fin de la synthèse du TrisK **8i** est identique aux précédentes : saponification du composé **1i**, puis ré-estérification en ester méthylique et réduction de la fonction nitro pour fournir le précurseur **4i** (Schéma 5c).

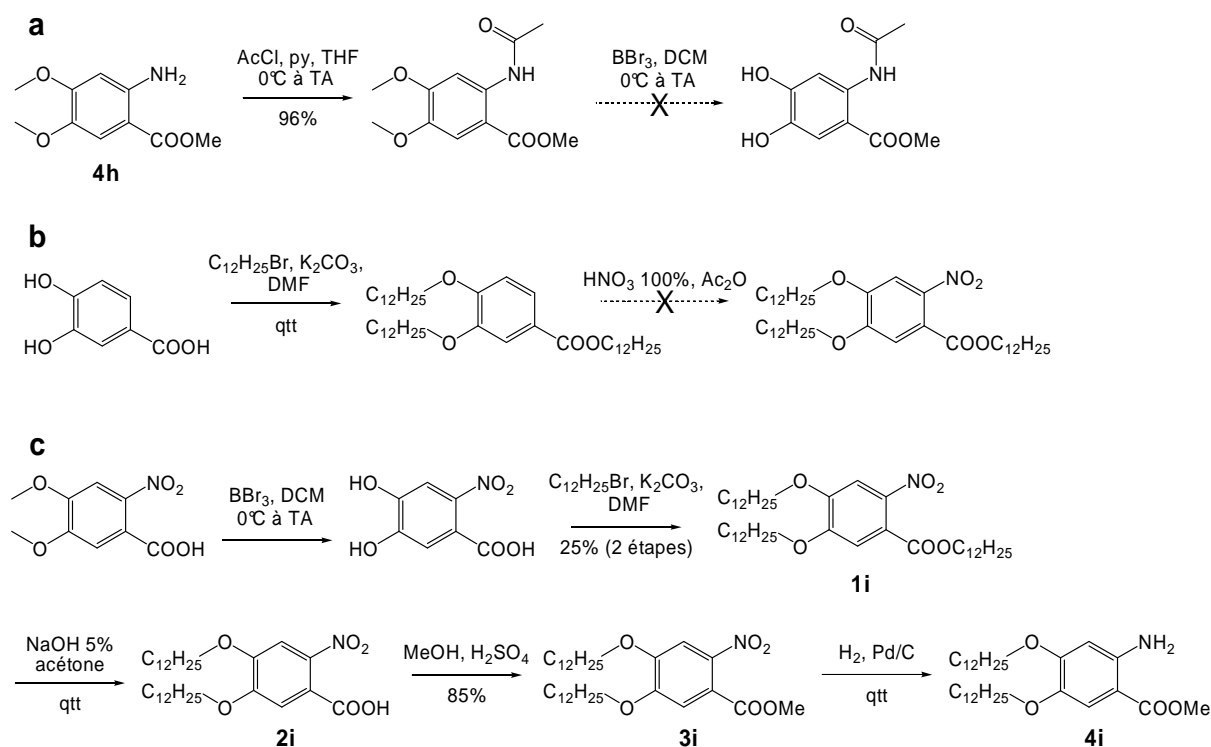


Schéma 5. Stratégies de synthèse du précurseur **4i**.

Ce précurseur est condensé sur le tribromobenzène, le triacide **6i** est obtenu par saponification du triester **5i** ainsi formé. La cyclisation est ici plus efficace que dans le cas précédent en raison de la bien plus grande solubilité du TrisK trichloré formé **7i** qui est alors obtenu avec un rendement de 49%. Les deux dernières étapes de réduction, réoxydation fournissent le TrisK **8i** hexa-substitué en C_{12} avec un rendement global de 5.2% sur dix étapes (Schéma 6).

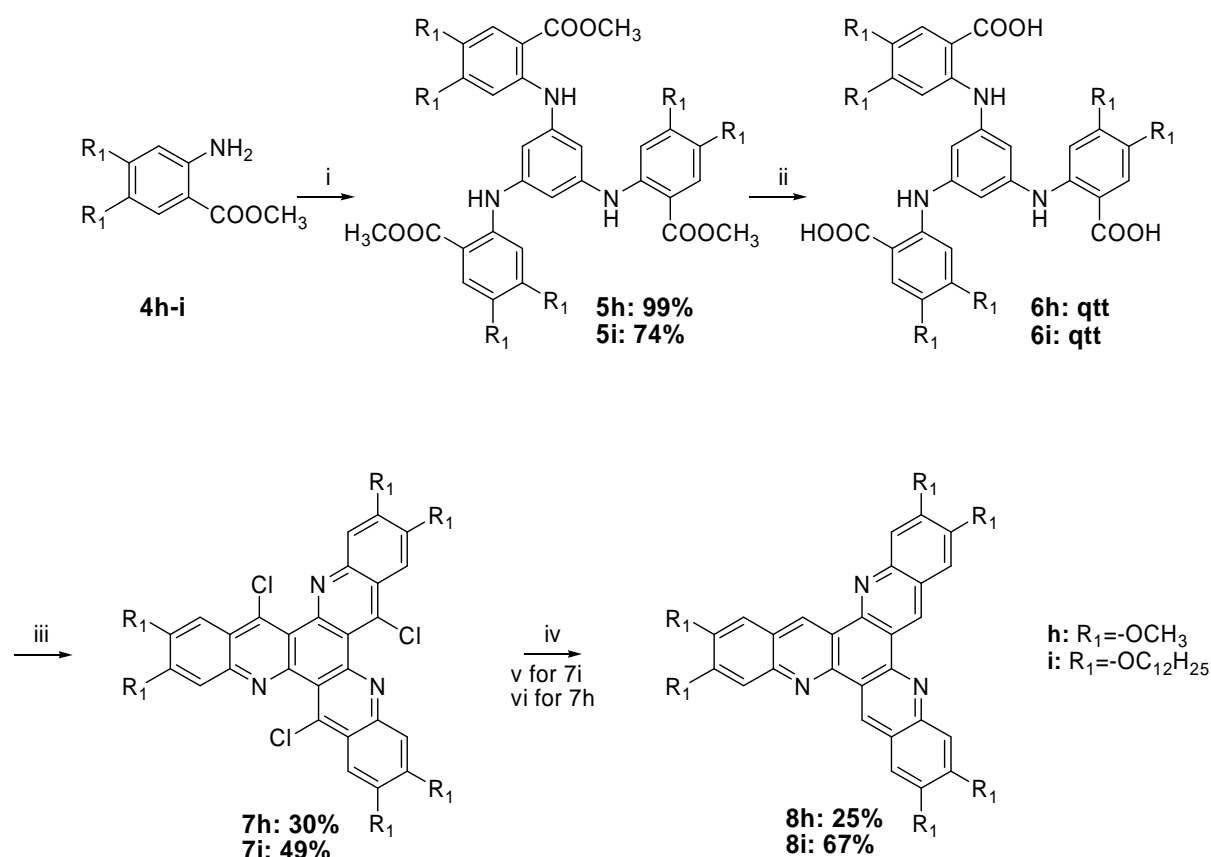


Schéma 6. Synthèse générale des TrisKs hexa-substitués.

Conditions et réactifs: i. 1,3,5-tribromobenzène, Pd(OAc)₂, P(tBu)₃, Cs₂CO₃, toluène, reflux, 72hrs, ii. NaOH 5%, acétone, reflux, 16hrs, iii. POCl₃, reflux, iv. LiAlH₄, THF, reflux, 16hrs, v. FeCl₃.6H₂O, EtOH/H₂O 2/1, reflux, 16hrs, vi. Triphenylcarbénium tétrafluoroborate 3.5equiv., AcOH, reflux, 16hrs.

III.3. Vers l'extension du cœur aromatique TrisK.

Enfin, nous avons voulu étendre le cœur aromatique en introduisant un cycle benzénique supplémentaire aux extrémités de chaque branche, dans le but d'amplifier les effets électroniques dus à la conjugaison des électrons π et d'augmenter les interactions aromatiques avec le substrat. Pour cela, nous avons utilisé comme précurseur le 2-méthoxycarbonyl-3-amino-naphthalène **4j** préparé par estérification de l'acide carboxylique correspondant. Cette fois-ci, la cyclisation ne fournit que le dérivé trisacridone **7j** sans trace du composé trichloré attendu (Schéma 7). Ceci est expliqué par la très faible solubilité de ce dérivé trisacridone **7j**, qui précipite lors de la réaction. Des essais de réduction de ce composé par du sodium au reflux du pentanol ne nous ont pas permis de terminer la synthèse de ce dernier dérivé TrisK. Des efforts sont à fournir pour poursuivre le développement de cette série de TrisKs étendus. L'introduction de chaînes alkyles sur le noyau aromatique devrait permettre de s'affranchir

des problèmes de solubilité, comme cela a été montré dans le cas des TrisKs précédents, et de terminer ces synthèses.

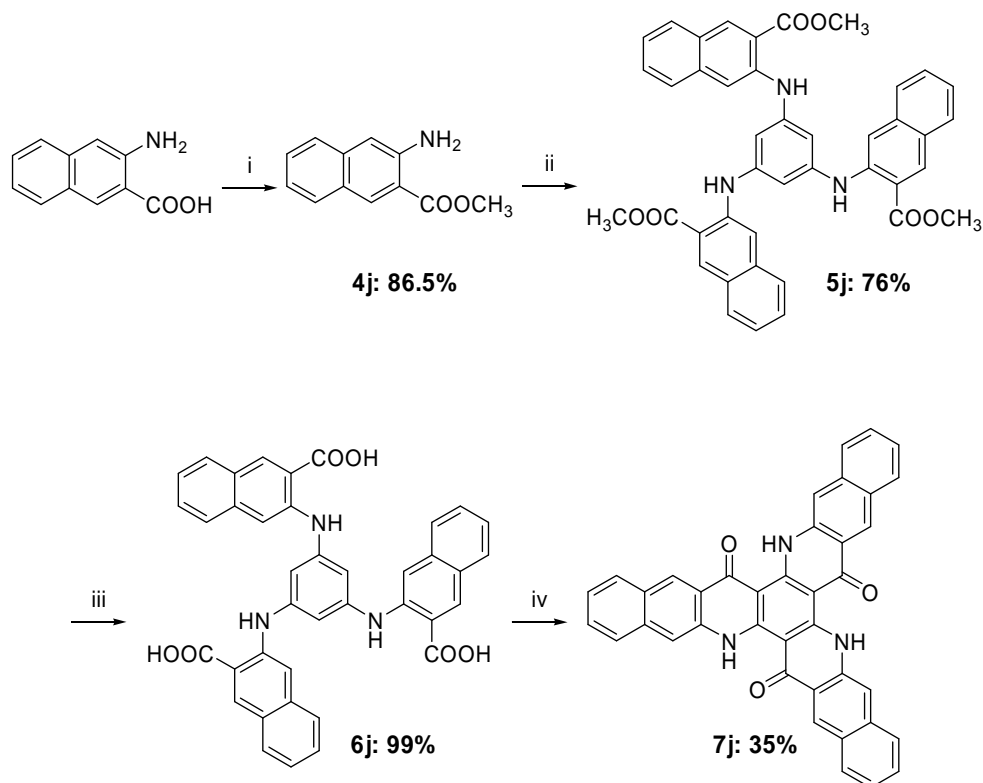


Schéma 7. Synthèse d'un dérivé TrisK au cœur aromatique étendu.

Conditions et réactifs: i. MeOH, H₂SO₄, reflux, 16hrs, ii. 1,3,5-tribromobenzène, Pd(OAc)₂, P(tBu)₃, Cs₂CO₃, toluène, reflux, 72hrs, iii. NaOH 5%, acétone, reflux, 16hrs, iv. POCl₃, reflux, 4 jours.

IV. Structure cristallographique de **8d**

Des cristaux du dérivé 2,8,14-tripropoxy-5,11,17-triazatrinaphthylène **8d** ont été obtenus par lente évaporation d'une solution dans le chloroforme. Sa structure cristallographique a été résolue par diffraction des rayons X (analyse réalisée à l'ICMMO, Orsay ; les détails des données cristallographiques sont présentés en Partie Expérimentale). Celle-ci comprend une molécule **8d** et deux molécules de solvant et correspond à la formule générale C₃₆H₃₃N₃O₃, 2(CHCl₃). Le TrisK **8d** cristallise ici dans le système triclinique dans le groupe d'espace P-1. Deux représentations ORTEP (Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot) de la structure sont présentées Figure 30.

La déviation maximale de chaque atome de carbone du cycle benzénique central C(1)-C(6) par rapport au plan moyen défini par l'ensemble du cœur aromatique (sans les hydrogènes) est de 0.034Å (la déviation moyenne étant de 0.02Å). D'autre part, la déviation moyenne d'un

atome du cœur aromatique (excepté les hydrogènes) par rapport à ce plan moyen est de 0.048Å. Enfin, ce plan moyen forme un angle dièdre avec le cycle benzénique central C(1)-C(6) de 0.81°. Ces mesures confirment donc que la molécule de TrisK est plane, sans distorsion notable.

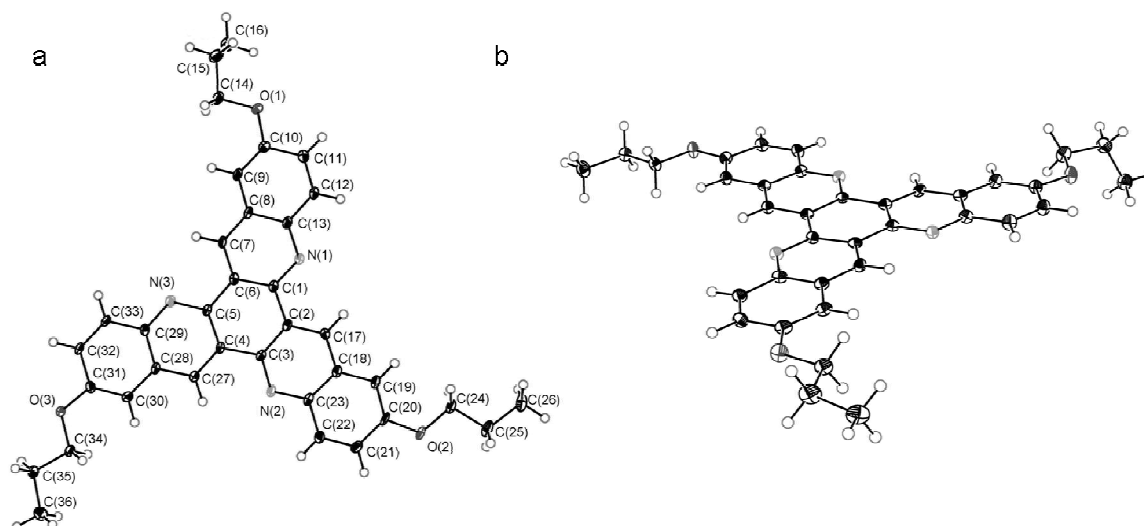


Figure 30. Représentations ORTEP du TrisK **8d**. a) avec numérotation des atomes, b) dans une autre vue. Les molécules de solvant sont omises pour plus de clarté.

La structure cristallographique de **8d** reflète sa symétrie C_{3h} . Les longueurs de liaisons et les valeurs des angles sont comparables dans les trois directions principales (le long des trois branches). Les longueurs des liaisons C-N sont dans la gamme 1.327-1.362Å ; elles sont donc plus courtes qu'une liaison simple C-N (1.47Å) et plus longues qu'une liaison double C=N non conjuguée (1.29Å). Les liaisons C-C ont une longueur comprise entre 1.361 et 1.474Å et les angles de liaisons sont dans la gamme 117.3-122.97° avec une valeur moyenne de 120° ce qui est en accord avec les grandeurs usuelles trouvées dans les systèmes aromatiques. Toutes ces données confirment que les molécules TrisKs possèdent un large système π délocalisé.

Etonnamment, la maille cristalline (Figure 31) ne montre pas d'empilement des cœurs aromatiques. Ceci est sans doute dû d'une part à la présence des deux molécules de solvant (CHCl_3) et d'autre part aux chaînes propyles (encombrement stérique). Il est intéressant de noter la présence d'interactions intermoléculaires entre les oxygènes et les hydrogènes aromatiques leur faisant face pour deux molécules voisines tête-bêche à une distance de 2.65Å, ce qui corrobore les caractéristiques des liaisons hydrogènes faibles (Figure 32). Ces interactions stabilisent la maille du cristal.

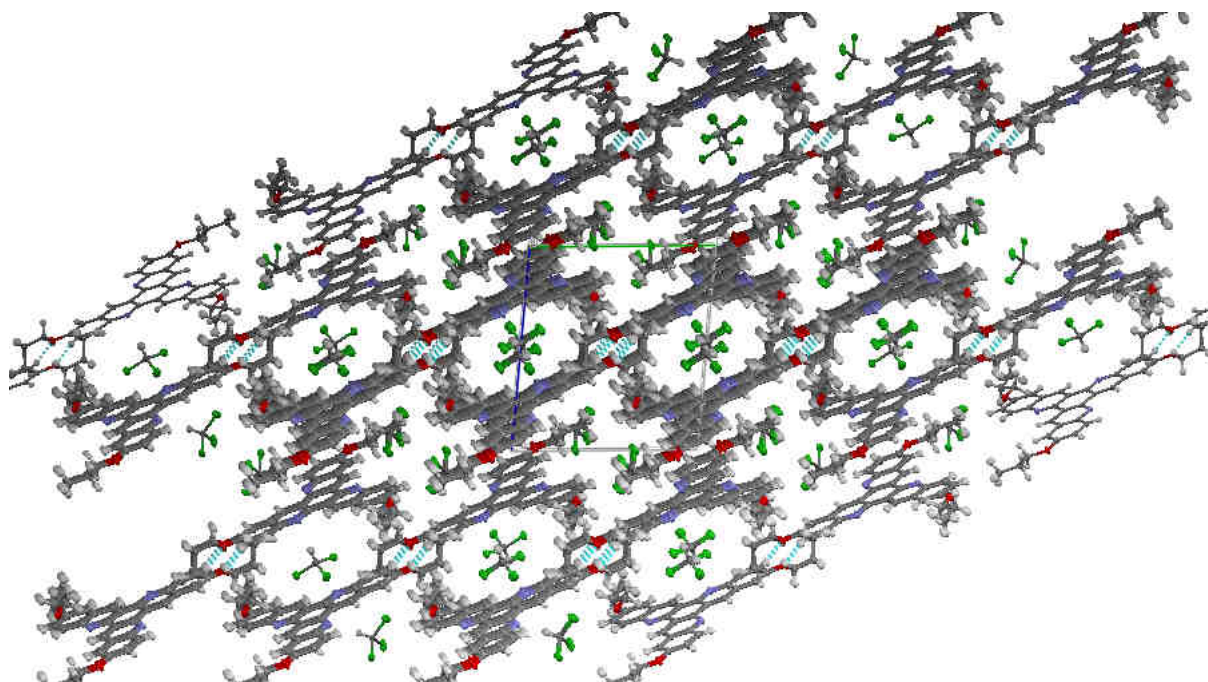


Figure 31. Structure cristalline du 2,8,14-tripropoxy-5,11,17-triazatrinaphthylene (**8d**)

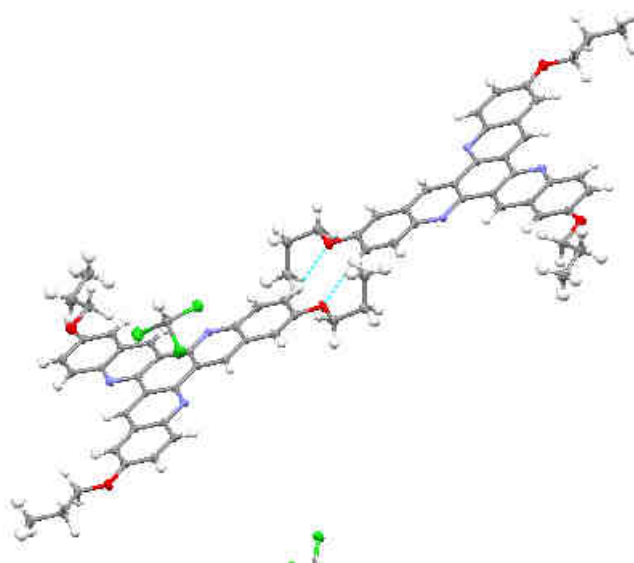


Figure 32. Liaisons H faibles entre deux molécules voisines dans le cristal de **8d**.

Chapitre 2 : Formation de monocouches auto-assemblées par les TrisKs

Afin de caractériser leurs propriétés d'auto-assemblage 2D, les dérivés de TrisKs synthétisés ont été étudiés par microscopie à effet tunnel (STM) à l'interface liquide/solide. Le liquide vecteur utilisé est le *n*-tétradécane sauf précision contraire, et le substrat est du graphite HOPG. Notre étude comporte trois parties :

- Nous avons tout d'abord étudié l'influence de la nature et de la longueur des chaînes (situées aux extrémités des branches) à travers les dérivés trisubstitués **8a-g**.
- Nous avons ensuite analysé l'influence des chlores en position R₂ du cœur aromatique sur la géométrie de l'auto-assemblage. Pour cela nous avons comparé les arrangements obtenus avec les dérivés chlorés **7a-g** à ceux formés par les TrisKs **8a-g**.
- Enfin, l'étude des dérivés hexa-substitués **7h-i** et **8h-i** nous a permis d'analyser l'impact du nombre de chaînes sur les propriétés d'auto-assemblage de ces composés.

I. Influence de la nature et de la longueur des chaînes

Les dérivés TrisKs **8a**, **8b** et **8c** (R₁=-H, -CH₃, -OCH₃ respectivement, Figure 33) nous permettent en premier lieu d'étudier l'influence de la nature des substituants en position R₁ : hydrogène, méthyle ou méthoxyle. Si le dérivé **8b** forme un arrangement hexagonal comme nous l'avons présenté Chap 1 §II, nous n'avons jamais observé de monocouche du composé **8a** sur graphite. Une faible différence de taille de la molécule comme celle introduite par un groupement méthyle à l'extrémité des trois branches semble donc avoir un effet notable sur les propriétés d'auto-assemblage de ces composés.

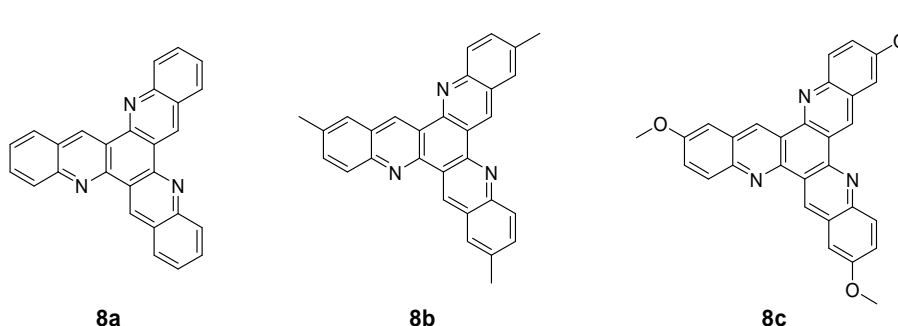


Figure 33. Structure chimique des TrisKs **8a**, **8b** et **8c**.

- TrisK substitué par des chaînes méthoxy **8c** :

Après dépôt du dérivé triméthoxylé **8c**, les images STM révèlent la coexistence de deux phases hexagonales α et β , aux cellules unitaires différentes (Figure 34a). Ces deux phases sont stables et peuvent être imagées pendant toute la durée de l'expérience (environ 24 heures). Un déplacement aléatoire des frontières entre ces deux arrangements est cependant observé. La phase α est un arrangement hexagonal, les zones de contraste le plus clair étant attribuées aux cœurs aromatiques des molécules ; sa maille unitaire, constituée d'une molécule, a les paramètres suivants : $a=b=21.0\pm1\text{\AA}$, $\gamma=59.7\pm1^\circ$ (Figure 34b). La phase β possède une structure hexagonale à deux niveaux d'ordre que l'on peut qualifier de 'supramoléculaire'. Sur l'image STM en Figure 34c, on distingue des zones toriques de contraste intense comportant un cœur de contraste plus faible. Ces zones circulaires brillantes sont entourées de six molécules formant un hexagone. La maille unitaire de cet arrangement, définie à partir de cet hexagone de molécules a pour paramètres $a=b=49.0\pm2\text{\AA}$, $\gamma=60.5\pm1^\circ$.

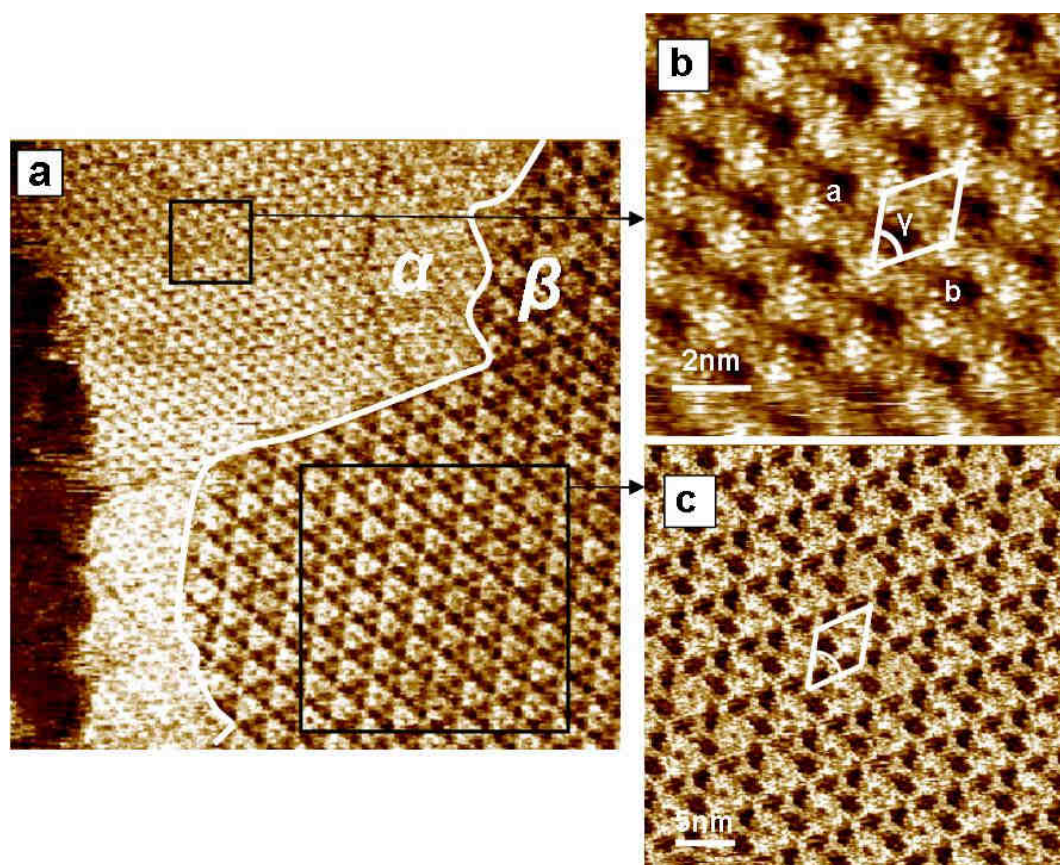


Figure 34. a) image STM ($80.9 \times 80.9\text{nm}^2$; $V_t=0.350\text{V}$; $I_t=69\text{pA}$) des phases coexistantes α et β formées par le TrisK **8c**. α) Image haute résolution de la phase α ($10.7 \times 10.7\text{nm}^2$; $V_t=0.350\text{V}$; $I_t=69\text{pA}$) β) Image STM de la phase β ($35.2 \times 35.2\text{nm}^2$; $V_t=0.350\text{V}$; $I_t=69\text{pA}$). Les cellules unitaires sont représentées en blanc.

Pour ces deux phases α et β , une seule orientation de domaine est visible sur le substrat. La complexité des images STM obtenues (en particulier pour l'arrangement β) ne nous permet pas de déterminer avec précision le mode d'arrangement des molécules dans ces deux phases. Nous présentons néanmoins un modèle pour l'arrangement de la phase α sur le graphite (Figure 35b) construit à l'aide des distances mesurées sur les images et de considérations liées à la géométrie hexagonale de l'arrangement et du substrat. Les paramètres de la maille unitaire obtenus par ce modèle sont en bon accord avec les valeurs mesurées : $a=b=21.3\text{\AA}$, $\gamma=60^\circ$. Sur l'image STM haute résolution de cet arrangement (Figure 35a), en dehors des points de contraste clair attribués aux cœurs aromatiques, on distingue des zones de contraste moins brillant entre les molécules. Dans le modèle proposé, ces zones sont expliquées par la présence des groupements méthoxy de trois molécules voisines. Celui-ci semble donc cohérent.

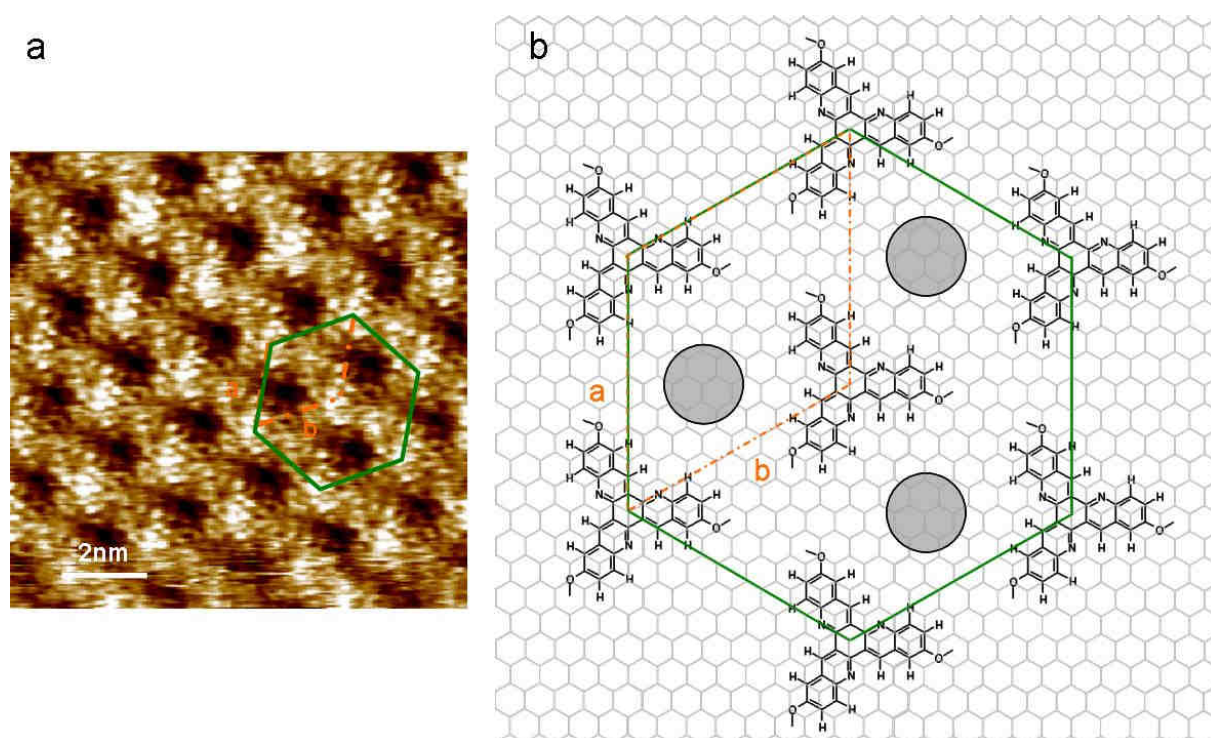


Figure 35. **a.** Image STM haute résolution de la phase α de **8c** ($10.7 \times 10.7\text{nm}^2$; $V_t = 0.350\text{V}$; $I_t = 69\text{pA}$) (gauche) **b.** modèle proposé pour cet arrangement. La cellule unitaire est représentée en pointillés orange, l'arrangement hexagonal du graphite sous-jacent est en gris clair. Les zones grisées correspondent à des cavités dans le réseau 2D de **8c**.

L'introduction d'un atome d'oxygène (remplacement d'un groupement méthyle par un groupement méthoxyle) suffit donc à changer notablement les propriétés d'auto-assemblage.

Un arrangement hexagonal est conservé mais avec des paramètres de maille plus étendus et un nouvel arrangement apparaît (phase β).

Les autres composés synthétisés, fonctionnalisés par des chaînes alkoxy de longueurs différentes (un composé aux chaînes courtes propyloxy ($-\text{OC}_3\text{H}_7$ **8d**) au nombre de carbones impair et trois aux chaînes longues décyloxy ($-\text{OC}_{10}\text{H}_{21}$ **8e**), dodécyloxy ($-\text{OC}_{12}\text{H}_{25}$ **8f**) et hénadécyloxy ($-\text{OC}_{16}\text{H}_{33}$ **8g**) au nombre de carbones pair) nous ont permis d'étudier l'influence de la longueur de la chaîne sur les propriétés d'auto-assemblage.

- TrisK **8d** à chaînes alkoxy en C3 :

La molécule **8d** forme une monocouche auto-assemblée immédiatement observable par STM, de larges domaines recouvrant entièrement le substrat de graphite. L'auto-assemblage formé ici a une structure en nid d'abeille (Figure 36A). Chaque sommet des hexagones apparaît en contraste STM clair et peut être attribué à un cœur aromatique de **8d**. De façon inhabituelle, chaque cavité est occupée par une septième molécule **8d** dont on distingue nettement la forme en étoile. La maille élémentaire du réseau nid d'abeille, constituée de deux molécules, a les paramètres suivants : $a=b=31\pm 1.5\text{\AA}$, $\gamma=59.1\pm 1^\circ$. Deux orientations de domaines sont observées, avec un angle de $\theta=23\pm 1^\circ$ ou $\theta=37\pm 1^\circ$ (modulo 60°) (Figure 36C). La largeur de la cavité (moyennée sur les images) est de $24\pm 1.2\text{\AA}$ ce qui est suffisant pour permettre l'insertion d'une molécule (17.6\AA entre deux groupements propyles d'après la structure cristallographique). Comme le montre la Figure 36A, sa forme triangulaire dans la cavité est bien définie et seules deux orientations différentes (identiques à celles des entités constituant les sommets des hexagones) sont observées. Ceci nous permet de conclure que ces dérivés sont confinés dans la cavité, une des deux orientations possibles semblant favorisée (70% contre 30% sur l'image de la Figure 36A), en rupture avec l'apparente symétrie des cavités.

La Figure 36B présente un modèle possible pour cet arrangement. Dans celui-ci des liaisons hydrogène faibles C-H...O d'une longueur de 2.5\AA interviennent entre deux molécules voisines constituant les sommets des hexagones. Ces liaisons intermoléculaires ont été observées dans la structure cristalline de ce même TrisK (Figure 32) et pourraient expliquer l'arrangement formé et sa stabilité. Les paramètres obtenus avec ce modèle sont cohérents avec ceux mesurés : $a=b=31.0\text{\AA}$ et l'angle entre domaines est bien retrouvé (Figure 36D). Enfin ce modèle fournit une explication aux deux orientations autorisées des molécules dans les cavités basée sur des interactions entre les chaînes alkyles.

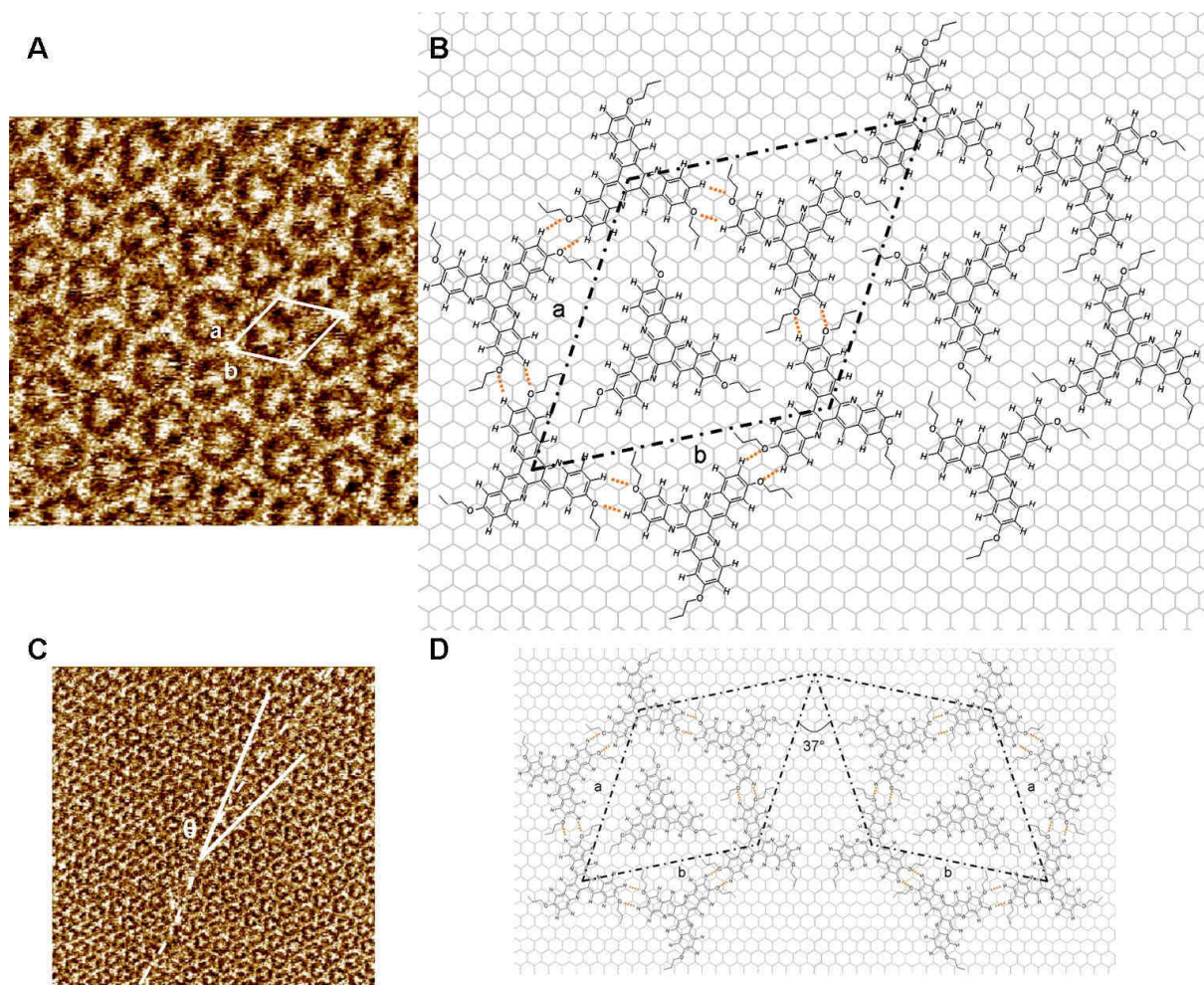


Figure 36. Images STM de la monocouche formée par **8d** ($R_1 = -OC_3H_7$) sur graphite **A**. $19.7 \times 19.7 \text{ nm}^2$; $V_t = 0.397 \text{ V}$; $I_t = 60 \text{ pA}$ **C**. $48.9 \times 48.9 \text{ nm}^2$; $V_t = 0.397 \text{ V}$; $I_t = 60 \text{ pA}$, θ est l'angle entre deux domaines d'orientations distinctes. **B**. modèle correspondant à l'arrangement. La maille est représentée en pointillés noirs et les liaisons hydrogène faibles proposées en pointillés orange. **D**. l'angle de domaines est retrouvé avec le modèle proposé.

- TrisK **8e** à chaînes alkoxy en C10 :

Le dépôt du TrisK **8e** ($R_1 = -OC_{10}H_{21}$) sur HOPG génère progressivement des domaines auto-organisés. La monocouche formée pave la surface, on note cependant de nombreux défauts dans l'arrangement (Figure 37). L'auto-assemblage est une structure hexagonale complexe, très stable dans le temps et avec les conditions d'imagerie (courant et tension). Une seule orientation de domaines est observée vis-à-vis du substrat de graphite. Les zones de contraste clair sont attribuées aux cœurs aromatiques des molécules **8e**. Leur forme triangulaire est ainsi observée avec une bonne résolution (grâce à un effet tunnel plus fort). Nous n'avons par contre pas obtenu de résolution pour les chaînes alkyles. La faible densité de molécules **8e** sur la surface (19% d'occupation, en ne considérant que les cœurs aromatiques) nous conduit à

supposer que les chaînes alkyles occupent les zones de contraste plus sombre, adsorbées selon les directions principales du graphite. On ne peut cependant pas exclure la possibilité qu'elles s'orientent perpendiculairement à la surface dans la goutte de solvant vecteur, ou qu'elles ne s'adsorbent que partiellement sur le substrat [97].

La maille de cet arrangement hexagonal, constituée de huit molécules (Figure 37), a pour paramètres : $a=b=58.9\pm 2.5\text{\AA}$, $\gamma=62\pm 2^\circ$. La monocouche forme un système de cavités : elle est en effet constituée de cavités centrales (de taille moyenne 22.5\AA , formées par des hexagones de molécules) entourées de six cavités plus petites (de formes quasi-rectangulaires et de largeur moyenne 14\AA , deux petites cavités successives formant un angle de 60°). Certaines des cavités centrales, de tailles suffisantes, sont occupées par une molécule supplémentaire. Le taux de 'remplissage' moyen observé est de 46%, un remplissage complet des cavités centrales n'a jamais été observé même pour des temps d'expérience longs. Cette occupation partielle peut être due à une concentration en molécules trop faible pour induire un remplissage total. Une molécule insérée dans une cavité apparaît ici comme un disque mal résolu, ce qui indique qu'elle n'est pas immobile dans la cavité et tourne à l'intérieur. La distribution spatiale des cavités occupées varie entre images STM successives : une molécule 'invitée' apparaît dans une cavité tandis qu'une autre disparaît à proximité, simultanément (Figure 38). Par ailleurs les points de contraste brillant correspondant à ces molécules invitées apparaissent parfois rayés parallèlement à la direction de balayage, suggérant une modification de l'état d'occupation des cavités au cours de l'imagerie. Une analyse plus poussée de ce phénomène dynamique permettrait de déterminer s'il procède par saut d'une cavité à une autre ou par l'intermédiaire d'un échange de matière avec la solution environnante. Un tel phénomène de dynamique a déjà été observé dans les cas de coronènes au sein d'une matrice nid d'abeille de tristilbènes [78].

La Figure 37 présente un modèle pour cet arrangement. Chaque sommet d'un hexagone est constitué d'une molécule, deux voisines étant liées par une rotation de 60° . Cet hexagone central est entouré de six autres entités en formant un plus grand, tourné de 8° . Cet arrangement à deux niveaux d'ordre forme donc un système supramoléculaire à double hexagone interpénétré. Les paramètres obtenus ($a=b=60.3\text{\AA}$, $\gamma=60^\circ$) sont en bon accord avec les distances mesurées. Les chaînes alkyles sont placées arbitrairement sur le graphite. Les molécules se situant dans les cavités sont supposées avoir une conformation dans laquelle les chaînes alkyles sont disposées perpendiculairement au substrat.

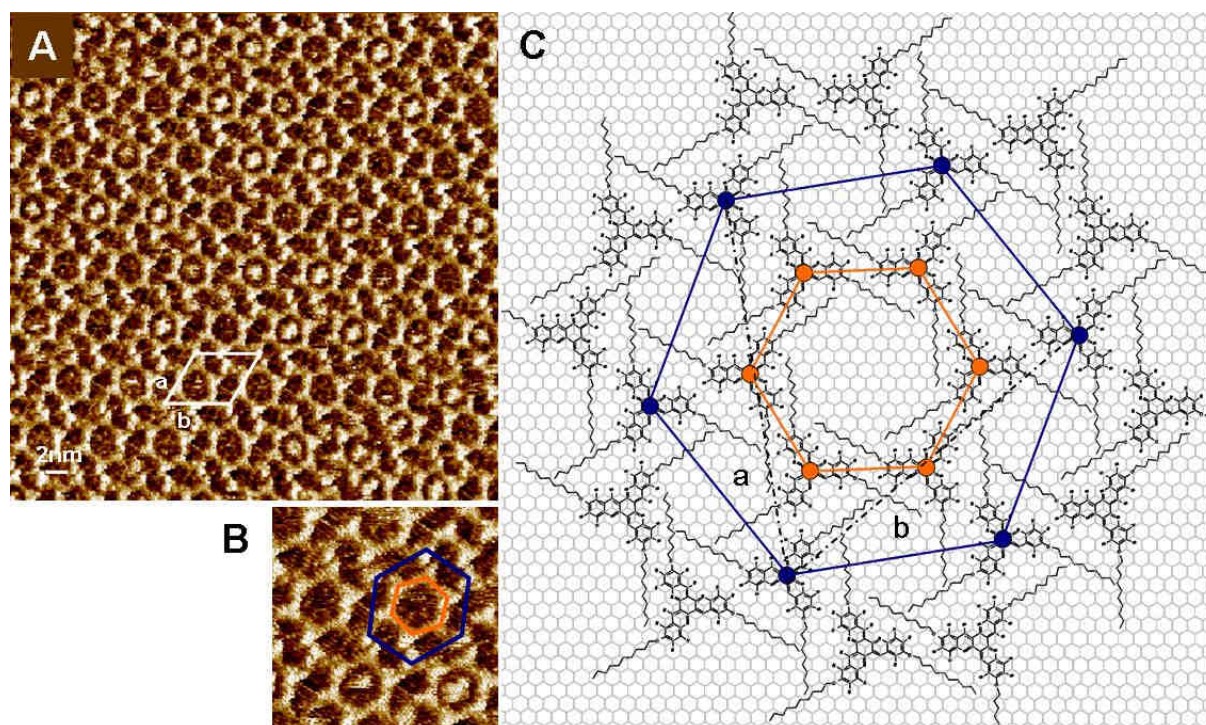


Figure 37. Images STM de la monocouche formée par **8e** ($R_1=-OC_{10}H_{21}$) sur graphite **A.** $43.0 \times 43.0 \text{ nm}^2$; $V_t=0.137 \text{ V}$; $I_t= 30 \text{ pA}$ **B.** $12.8 \times 12.8 \text{ nm}^2$; $V_t=0.137 \text{ V}$; $I_t= 30 \text{ pA}$ et **C.** modèle correspondant. Les deux hexagones interpénétrés sont matérialisés en orange et bleu respectivement, la maille unitaire est représentée en pointillés noirs.

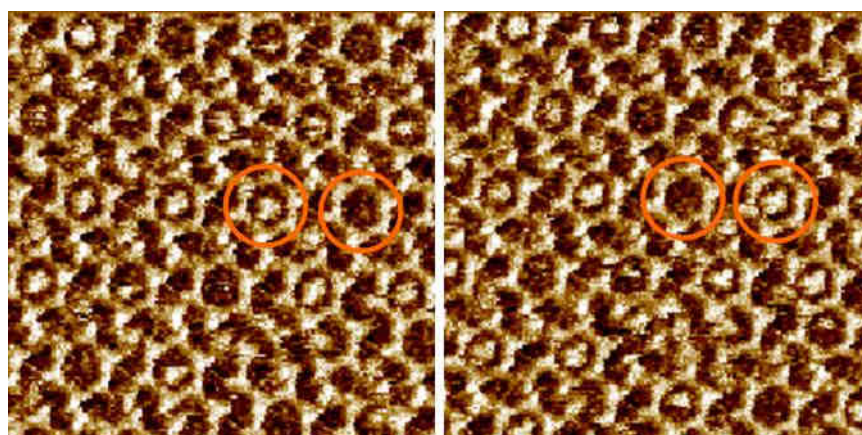


Figure 38. Images STM successives de l'arrangement formé par **8e** ($26.5 \times 26.5 \text{ nm}^2$, $V_t=0.137 \text{ V}$; $I_t= 30 \text{ pA}$) mettant en évidence le phénomène de dynamique. Les cercles orange montrent deux cavités voisines dont l'état d'occupation change d'une image à l'autre.

- TrisK **8f** à chaînes alkoxy en C12 :

Les TrisKs portant des chaînes longues **8e** ($R_1=-OC_{10}H_{21}$), **8f** ($R_1=-OC_{12}H_{25}$), **8g** ($R_1=-OC_{16}H_{33}$) sont caractérisés par une cinétique d'organisation lente. Ainsi, comme dans le cas de **8e** ($R_1=-OC_{10}H_{21}$), la monocouche formée par **8f** ($R_1=-OC_{12}H_{25}$) apparaît progressivement. On note en revanche une modification importante dans la symétrie des arrangements. En effet,

trois types d'arrangements en rangées sont observés au sein d'une matrice désordonnée caractérisée par un ordre à très courte distance (formation de dimères, d'hexagones, de croix etc.) (Figure 39). Une longueur de chaîne de douze carbones marque donc une transition : les interactions entre les chaînes et les interactions chaînes-substrat deviennent prépondérantes à cette longueur et constituent la force motrice de l'auto-organisation.

Les trois arrangements observés notés respectivement α , β et γ sont ainsi basés sur l'interdigitation des chaînes alkyles. Dans les trois cas, une haute résolution des cœurs aromatiques des molécules et des chaînes est observée. Les Figure 39 et Figure 40 montrent des domaines de ces trois phases de différentes tailles, que nous allons décrire successivement.

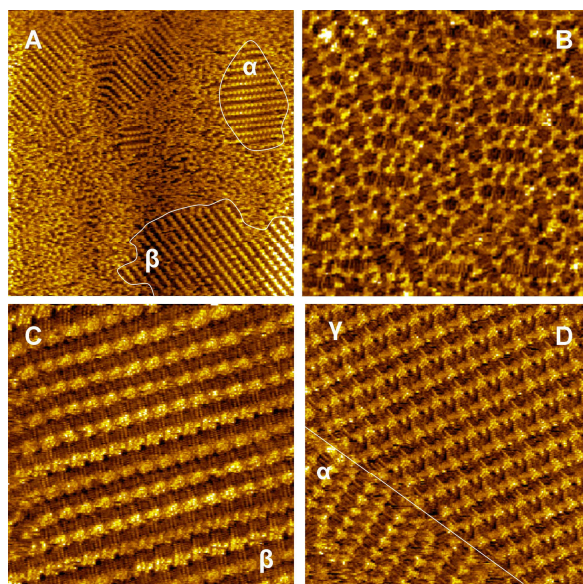


Figure 39. Images STM de la monocouche formée par **8f** ($V_t=0.133V$; $I_t=100pA$). **A:** îlots de phases α et β dans la matrice $100.8 \times 100.8nm^2$. **B:** matrice et ordre à courte distance $33.3 \times 33.3nm^2$. **C:** phase β $35.8 \times 35.8 nm^2$. **D:** phases α et γ $34.2 \times 34.2nm^2$.

Phase α : cet arrangement est construit à partir de deux rangées de molécules **8f** que nous noterons I et II. Au sein d'une même rangée, les molécules ont la même configuration; en revanche, celles des rangées I et II sont antiparallèles (liées par une rotation de 180°). La phase α est donc constituée d'une succession de rangées I-II-I entre lesquelles les chaînes alkyles sont interdigitées. Celles-ci adoptent des orientations différentes dans les travées I-II et II-I, formant entre elles un angle de 120° , ce qui reflète la symétrie du graphite. L'image STM haute résolution (Figure 40a) montre la maille unitaire de cette phase α dont les paramètres sont : $a=20.5\pm1\text{\AA}$, $b=47.1\pm2\text{\AA}$, $\theta=90.3\pm3^\circ$. Le modèle proposé est en bon accord avec ces mesures ($a=21.3\text{\AA}$, $b=47.5\text{\AA}$, $\theta=93^\circ$).

Phase β : (Figure 40 β) Les chaînes alkyles interdigitées sont clairement visibles entre les rangées de cœurs aromatiques qui apparaissent ici moins résolus. Ces chaînes gardent la même orientation pour chaque molécule. La maille élémentaire de cet arrangement, représentée Figure 40, a pour paramètres: $a=29.5\pm1\text{\AA}$, $b=30.5\pm1\text{\AA}$, $\theta=76.0\pm2^\circ$. Dans le modèle que nous proposons, les chaînes alkyles sont enchevêtrées entre les rangées de noyaux aromatiques. Deux molécules voisines d'une même rangée sont positionnées tête-bêche et semblent parfois interagir via des liaisons hydrogène faibles C-H...O (à des distances typiques de 2.8 \AA). Les paramètres obtenus avec ce modèle sont $a=29.7\text{\AA}$, $b=31.15\text{\AA}$, $\theta=77^\circ$.

Phase γ : dans ce dernier cas, les rangées formées par les molécules **8f** sont à nouveau non équivalentes deux à deux. En effet les chaînes alkyles s'orientent ici aussi à 120° entre deux paires de rangées. Deux molécules voisines sont disposées tête-bêche. On peut ainsi voir cette phase γ comme un mélange des phases β et α . On remarque enfin certaines chaînes alkyles au contraste STM particulièrement fort (Figure 40). La maille élémentaire de cet arrangement représentée sur l'image STM de la Figure 40 a pour paramètres : $a=29.1\pm1.4\text{\AA}$, $b=51.5\pm2.5\text{\AA}$, $\theta=92.7\pm2^\circ$. Dans le modèle proposé pour la phase γ , les paramètres de maille sont respectés ($a=30.3\text{\AA}$, $b=54.6\text{\AA}$, $\theta=93^\circ$) mais une des chaînes (rectangle rouge sur la Figure 40) ne peut pas s'adsorber sur le graphite en raison de la trop forte densité du réseau.

En conclusion, la coexistence de ces trois arrangements peut s'expliquer par l'adsorption des chaînes alkyles d'une même molécule selon les différents axes principaux du graphite (*i.e.* dans plusieurs orientations). Aucune de ces trois phases ne semble majoritaire.

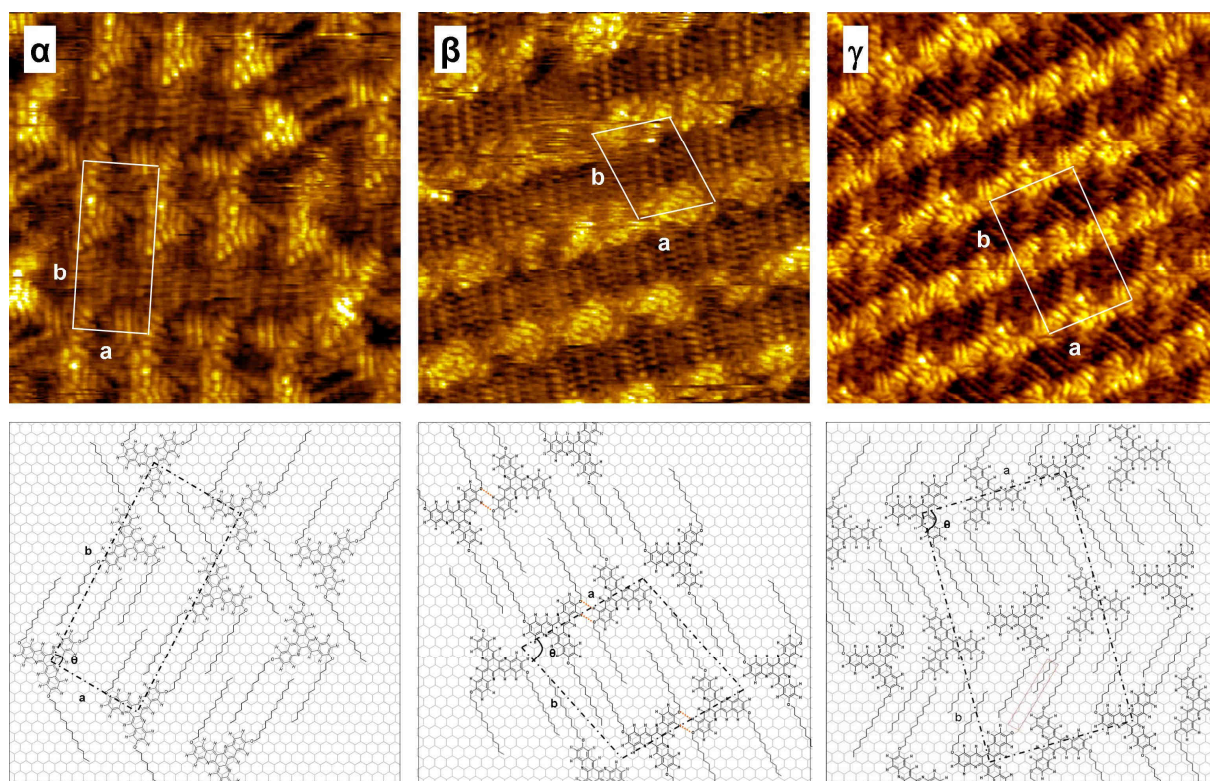


Figure 40. Images hautes résolutions des phases α , β et γ formées par **8f** sur graphite ($V_t=0.133V$, $I_t=100pA$, α $11.1 \times 11.1 \text{ nm}^2$, β $13.6 \times 13.6 \text{ nm}^2$, γ $13.1 \times 13.1 \text{ nm}^2$, les cellules unitaires sont représentées en blanc) et modèles correspondants pour ces arrangements.

Les modèles proposés pour les trois phases formées par **8f** montrent que l'enchevêtrement des chaînes alkyles n'est pas idéal. Soit il est incomplet (les chaînes ne sont pas enchevêtrées sur toute leur longueur) soit il reste des espaces libres (phases β et γ en particulier). En effet, la distance typique inter-chaînes dans un empilement 2D compact est de 4-5Å, ce qui résulte des interactions de Van der Waals optimisées entre chaînes [45, 105, 106]. Dans les molécules de TrisK à trois chaînes alkoxy, la distance séparant deux oxygènes est de 12.9Å. L'adsorption d'une chaîne alkyle d'une molécule 'invitée' entre deux chaînes alkyles orientées parallèlement sur une même face d'une molécule 'hôte' (comme on le propose dans les modèles des phases β et γ) induit donc nécessairement la formation d'un espace libre. Ce dernier est suffisamment grand pour permettre la coadsorption d'une molécule de tétradécane. Cette possible coadsorption de tétradécane dans les arrangements formés par **8f** est renforcée par la disparition totale de ces trois phases et l'apparition d'un nouvel auto-assemblage quand le dépôt s'effectue à partir d'une solution dans le phényloctane.

- TrisK **8g** à chaînes alkoxy en C16 :

Comme attendu au vu des observations précédentes, la molécule portant trois chaînes à seize carbones **8g** ($R_1 = -OC_{16}H_{33}$) forme exclusivement des domaines auto-assemblés en rangées. Le substrat de graphite est totalement recouvert par de larges domaines de la phase γ décrite précédemment. Des domaines selon trois directions sont visibles (Figure 41), orientés à 120° les uns par rapport aux autres. Le réseau de **8g** ayant une symétrie d'ordre 2 et celui du graphite une symétrie d'ordre 6, on trouve trois arrangements équivalents orientés à 120° s'il y a accord de maille entre le substrat et l'adsorbat. Les paramètres de la maille élémentaire de la phase γ sont $a = 30.1 \pm 1.5 \text{ \AA}$, $b = 58.7 \pm 2.5 \text{ \AA}$, $\theta = 91.6 \pm 2^\circ$.

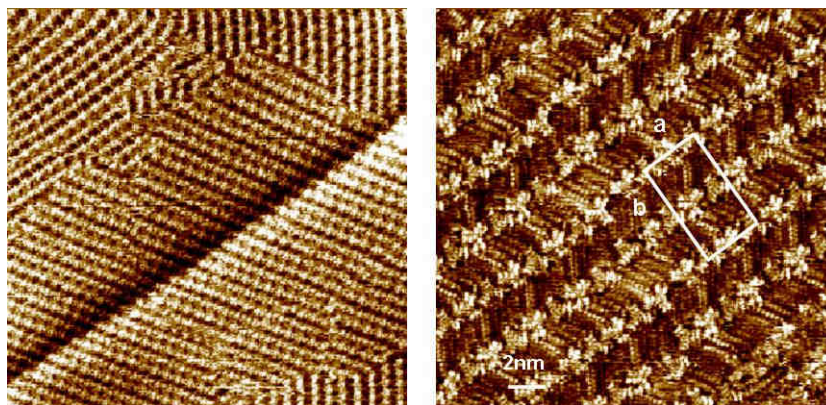


Figure 41. Images STM de la monocouche formée par **8g** sur graphite. Gauche: ($86.0 \times 86.0 \text{ nm}^2$; $V_t = -0.166 \text{ V}$; $I_t = 20 \text{ pA}$) les trois orientations de domaines sont visibles. Droite: image haute résolution ($21.5 \times 21.5 \text{ nm}^2$; $V_t = -0.166 \text{ V}$; $I_t = 20 \text{ pA}$). La maille élémentaire est visualisée en blanc.

L'étude des TrisK **8c-g** ($R_1 = -OC_nH_{2n+1}$, $n = 3-16$) nous montre donc que tous ces dérivés alkoxy forment des monocouches auto-assemblées stables sur graphite. Ces composés sont caractérisés par une très grande diversité d'arrangements, chaque longueur de chaîne entraînant la formation d'une nouvelle structure. On note cependant qu'une longueur de douze carbones marque une transition entre des arrangements de symétries hexagonales qui reflètent la symétrie C_3 des molécules ($n \leq 10$) et des assemblages en rangées dominés par les interactions inter-chaînes ($n > 10$).

L'auto-assemblage de molécules sur des surfaces atomiquement planes résulte de la combinaison des interactions molécule-molécule et molécule-substrat. Parmi ces interactions, les liaisons hydrogène et les forces de Van der Waals sont essentielles. Dans le cas des courtes chaînes alkyles, on peut imaginer que les interactions cœur aromatique-substrat sont importantes (large surface aromatique des TrisK) et ancrent les molécules sur la surface. Elles

détermineraient ainsi la géométrie de l'adsorption des molécules. L'auto-assemblage résulterait ensuite de liaisons intermoléculaires comme les liaisons hydrogène faibles C-H...O pouvant se créer entre molécules voisines. Pour des chaînes alkyles longues (à partir de douze carbones), les interactions chaîne-chaîne (interdigitation) et les interactions chaînes-substrat sont prépondérantes et gouvernent l'auto-assemblage et la rupture de symétrie.

II. Auto-assemblage 2D des TrisKs chlorés

La comparaison des monocouches auto-assemblées formées par les TrisKs **8** ($R_2=-H$) et par les TrisKs **7** 'chlorés' ($R_2=-Cl$) nous permet d'analyser l'effet de la présence d'atomes volumineux sur le cœur aromatique en positions R_2 . Peu d'études STM sur l'influence des halogènes sur les propriétés d'auto-assemblages de molécules organiques ont été réalisées à ce jour [107-109].

II.1. Structure des auto-assemblages 2D formés par les TrisK **7** chlorés.

Dans le cas de substituants méthoxyle en position R_1 (composé **7c**), un arrangement hexagonal identique à la phase α formée par le composé hydrogéné correspondant **8c** est observé (Figure 42). La phase β est en revanche absente.

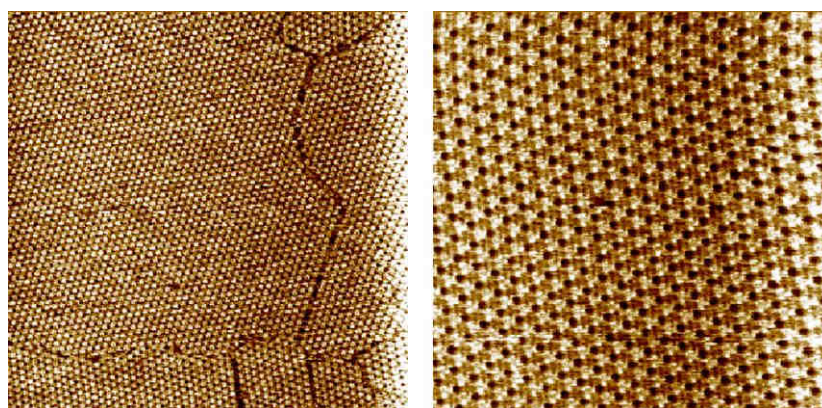


Figure 42. Images STM de la monocouche formée par **7c** sur graphite. $I_t=69pA$, $V_t=0.356V$ (gauche) $105.6 \times 105.6 \text{ nm}^2$ (droite) $41.8 \times 41.8 \text{ nm}^2$.

Le dérivé portant des chaînes propyles **7d** forme un arrangement en nid d'abeille sur le graphite observable immédiatement après le dépôt. Deux orientations de domaines sont

visibles et les paramètres de maille pour cet assemblage sont $a=b=24.6\pm 1.2\text{\AA}$, $\theta=60.3\pm 1^\circ$. Ce réseau nid d'abeille est assez compact et forme des cavités d'environ 14\AA de diamètre. La qualité des images obtenues ne permet pas l'analyse de cet arrangement plus avant.

De manière plus surprenante, les dérivés chlorés à plus longues chaînes (dix et douze carbones, **7e** et **7f** respectivement) forment exclusivement des réseaux en nid d'abeille, moins denses, de mêmes paramètres de maille (Figure 43, A et D images de gauche). Les monocouches sont observables immédiatement après le dépôt des molécules sur le substrat. Les chaînes alkyles ne sont pas visibles mais les cœurs aromatiques des molécules sont imagés avec un fort courant tunnel et une très haute résolution. Les caractéristiques des réseaux observés sont identiques à celles de l'assemblage formé par la molécule **8d** (deux orientations de domaines avec un angle $\varphi=36\pm 1^\circ$ ou $24\pm 1^\circ$, paramètres de maille $a=b=31.0\pm 1.5\text{\AA}$, $\theta=60.7\pm 1^\circ$) indiquant une même organisation des molécules. Ici, on peut envisager une adsorption des chaînes alkyles selon les axes principaux du graphite. La cavité formée ($21.3\pm 1\text{\AA}$ de diamètre) devient alors trop petite pour permettre l'inclusion d'une molécule. Le modèle correspondant est représenté en Figure 43G ; il nous permet de donner l'expression exacte (3) de la maille des monocouches en fonction de celle du substrat :

$$(1) |\vec{a}| = |11\vec{i} + 3\vec{j}| = |11\vec{i} + 3\cos(60)\vec{i}| = \sqrt{156}|\vec{i}|$$

$$\text{et } (2) (\vec{a}, \vec{i}) = \frac{\varphi}{2} = 12^\circ$$

Avec \vec{a} un vecteur de la maille de l'adsorbat et \vec{i} , \vec{j} les vecteurs de la maille du graphite.

On peut exprimer la maille de l'adsorbat en notation de Wood :

$$(3) \left(\frac{\|\vec{a}\|}{\|\vec{i}\|} \times \frac{\|\vec{b}\|}{\|\vec{j}\|} \right) R(\vec{a}, \vec{i}) = (\sqrt{156} \times \sqrt{156}) R12^\circ$$

Enfin, ces auto-assemblages en nid d'abeille sont indépendants du solvant utilisé comme vecteur (n-tétradécane ou phényloctane), comme le montre la Figure 43 (C et F).

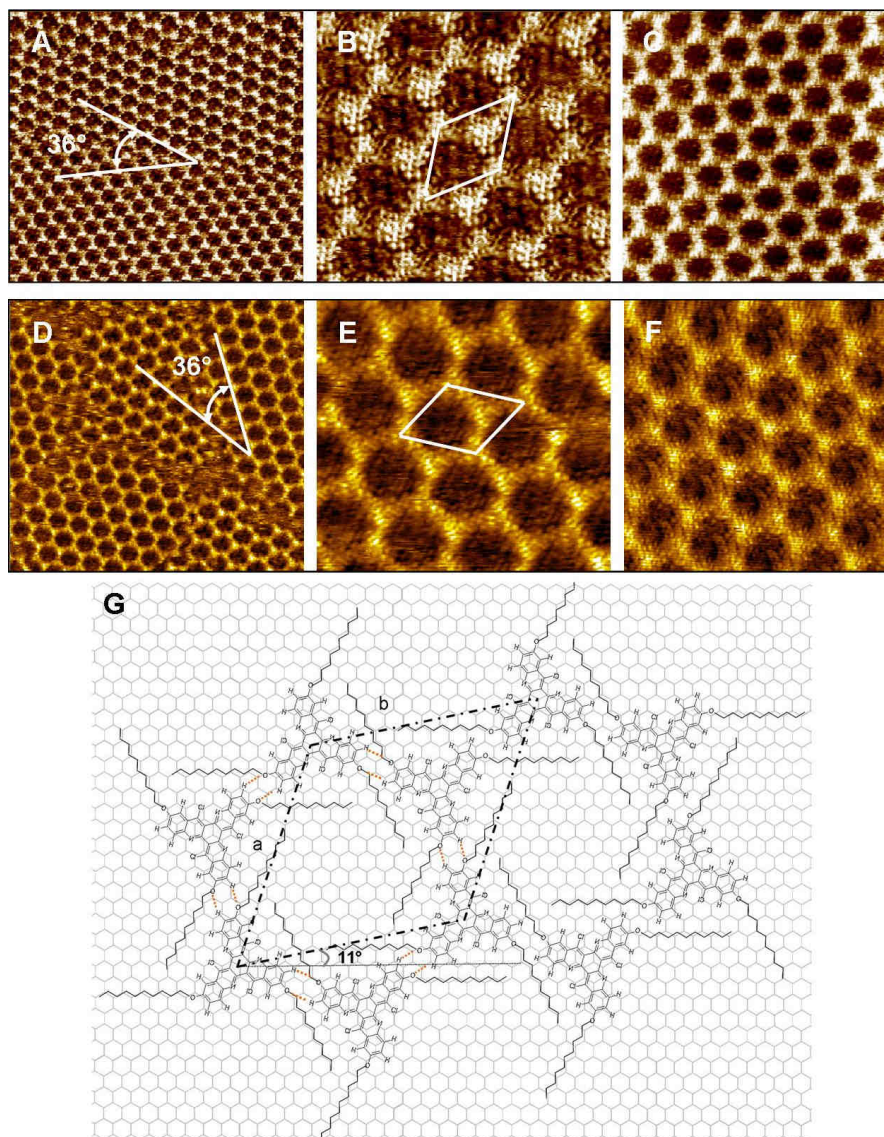


Figure 43. Images STM de la monocouche formée par **7e** : **A.** 45.1x45.1 nm², $V_t=0.361V$, $I_t=24pA$ (tétradécane), **B.** 11.6x11.6 nm², $V_t=0.38V$, $I_t=60pA$ (tétradécane), **C.** 22.4x22.4 nm², $V_t=0.359V$, $I_t=24pA$ (phényloctane) et par **7f** : **D.** 38.6x38.6 nm², $V_t=0.305V$, $I_t=100pA$ (tétradécane), **E.** 11.7x11.7 nm², $V_t=0.305V$, $I_t=100pA$ (tétradécane), **F.** 14.3x14.3 nm², $V_t=0.243V$, $I_t=50pA$ (phényloctane). **G.** modèle correspondant pour **7e**.

Ce même réseau nid d'abeille ($(\sqrt{156} \times \sqrt{156})R12^\circ$) est encore observé dans l'auto-assemblage du TrisK **7g** portant des chaînes à seize carbones. Immédiatement après le dépôt de la molécule sur le substrat, il coexiste avec un arrangement en rangées (Figure 44) mais devient majoritaire au fil du temps. Dans le cas des TrisKs chlorés, c'est donc pour une longueur de chaînes de seize carbones que les interactions molécule-molécule d'une part et chaînes-chaînes, chaînes-substrat d'autre part s'équilibrent. L'arrangement en rangées n'est pas le même que celui observé pour le TrisK hydrogéné correspondant **8g** (phase γ), il s'agit en revanche ici de la phase α déjà observée avec la molécule **8f** ($R_1=-OC_{12}H_{25}$, $R_2=-H$). Ses

paramètres de maille sont légèrement modifiés en raison du nombre plus élevé de carbones dans les chaînes et sont ici : $a=19\pm1\text{\AA}$, $b=57\pm2\text{\AA}$ $\theta=93.1\pm3^\circ$. Cet arrangement en doubles rangées se rencontre donc à chaque changement du mode d'organisation (hexagonal \leftrightarrow rangées), c'est-à-dire quand les interactions intermoléculaires d'enchevêtrement de chaînes deviennent dominantes. C'est ici le cas de **7g** ($R_1=-\text{OC}_{16}\text{H}_{33}$, $R_2=-\text{Cl}$) en comparaison avec **8f** ($R_1=-\text{OC}_{12}\text{H}_{25}$, $R_2=-\text{H}$).

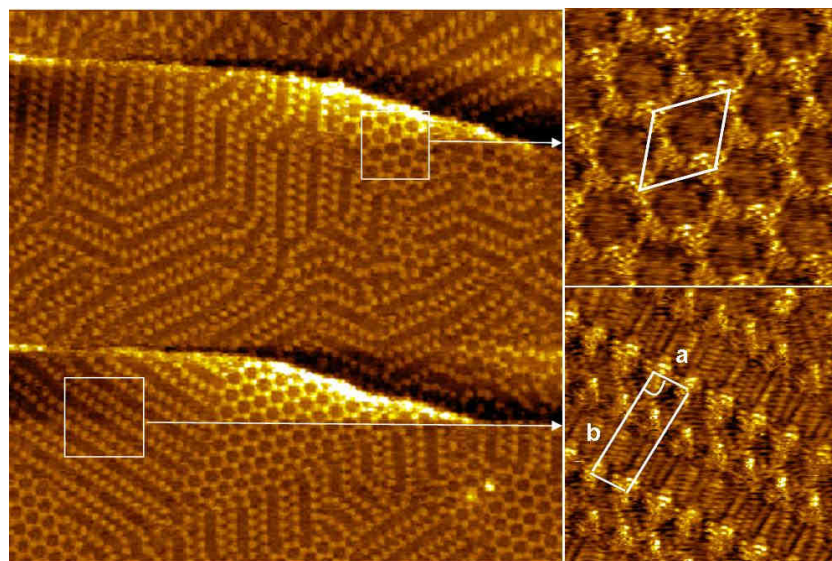


Figure 44. Images STM de la monocouche formée par **7g**. $V_t=-0.177\text{V}$, $I_t=24\text{pA}$ Gauche: $92.4\times92.4\text{nm}^2$ droite (haut) image haute résolution du réseau nid d'abeille $11.1\times11.1\text{nm}^2$ droite (bas) Image haute résolution de la phase en rangées $13.3\times13.3\text{nm}^2$.

II.2. Influence des chlores sur l'auto-assemblage.

Le paragraphe précédent montre une forte influence des chlores situés dans les régions 'internes' du cœur aromatique sur l'auto-assemblage de ces molécules. Le Tableau 3 rassemble les mailles observées pour les TrisKs **7c-g** et **8c-g** étudiés dans le tétradécane. Les dérivés chlorés forment essentiellement des réseaux en nid d'abeille jusqu'à une longueur de chaînes de seize carbones. Les réseaux en nid d'abeille induisent pourtant la formation de cavités non occupées par les molécules, ce sont donc des structures moins denses et énergétiquement défavorables. Dans les deux cas (chlorés **7** et 'non-chlorés' **8**), l'augmentation de la longueur de chaîne induit une transition de réseaux à symétrie hexagonale reflétant les symétries des molécules et du substrat à des réseaux en rangées gouvernés par les interactions de Van der Waals entre les chaînes (chaînes-chaînes et chaînes-substrat). Ce changement de mode d'assemblage est fortement retardé pour les dérivés chlorés **7**. Nous avons cherché à comprendre l'influence des atomes de chlores sur les interactions

molécule-molécule (en particulier au niveau des cœurs aromatiques) et molécule-substrat (en particulier cœur aromatique-substrat).

TrisK	paramètres de mailles de l'auto-assemblage				
	Structure du réseau	a(Å)	b(Å)	angle (deg)	Z
non-chloré					
8c	hexagonal	21.0 +/-1	21.0 +/-1	59.7 +/-1	1
	Hexagonal 'supérieur'	49.0 +/-2	49.0 +/-2	60.5 +/-1	8
8d	nid d'abeille rempli	31.0 +/-1.5	31.0 +/-1.5	59.1 +/-1	3
8e	hexagonal double	58.9 +/-2.5	58.9 +/-2.5	62.0 +/-2	8
8f	rangées (quasi-rectangulaire)	20.5 +/-1	47.5 +/-2	90.3 +/-3	2
	rangées (parallélogramme)	29.5 +/-1	30.5 +/-1	76.0 +/-2	2
	rangées (quasi-rectangulaire)	29.1 +/-1.4	51.5 +/-2.5	92.7 +/-2	4
8g	rangées (quasi-rectangulaire)	30.1 +/-1.5	58.7 +/-2.5	91.6 +/-2	4
chloré					
7c	Hexagonal	21.0 +/-1	21.0 +/-1	59.7 +/-1	1
7d	nid d'abeille	24.6 +/-1.2	24.6 +/-1.2	60.3 +/-1	2
7e	nid d'abeille	31.0 +/-1.5	31.0 +/-1.5	60.7 +/-1	2
7f	nid d'abeille	31.0 +/-1.5	31.0 +/-1.5	60.7 +/-1	2
7g	nid d'abeille	31.0 +/-1.5	31.0 +/-1.5	60.7 +/-1	2
	Rangées	19.0 +/-1	57.0 +/-2	93.1 +/-3	2
six chaînes					
8i	dimères zig-zag	47.9 +/-2	55.0 +/-2.5	90.3 +/-1	4
7i	dimères rangées	29.8 +/-1.5	44.7 +/-2.2	68 +/-1.5	2

Tableau 3. Résumé des paramètres de mailles des arrangements observés pour les TrisK chlorés (**7c-g**) et 'non-chlorés' (**8c-g**) à l'interface n-tétradécane/HOPG. Z est le nombre de molécules par maille.

Dans les modèles des réseaux en nid d'abeille que nous proposons, il existe la possibilité que des liaisons hydrogène faibles C-H...O se forment entre les extrémités des branches de deux molécules voisines. Ces liaisons H faibles étant fortement influencées par les groupements présents sur la molécule, nous avons cherché à savoir si elles pouvaient être renforcées par la présence des chlores. Nous avons pour cela réalisé des calculs DFT (density functional theory) sur les molécules modèles **7c** et **8c** portant des groupements méthoxyles (les carbones supplémentaires des chaînes alkyles ont peu d'influence sur les caractéristiques calculées des cœurs aromatiques). Les calculs ont été réalisés avec le logiciel Gaussian [110] en utilisant la méthode b3lyp et la base de calcul 6-31G* (pour **8c**) ou 6-21G* (pour **7c**), les charges NBO (Natural Bonding Orbital) et les orbitales moléculaires ont été calculées après optimisation de la géométrie. Pour les deux molécules, les valeurs des charges partielles portées par les

atomes d'oxygène et d'hydrogène des cycles externes sont typiques de celles rencontrées pour les liaisons H faibles (Figure 45). Cependant, contrairement à nos prévisions, la présence d'atomes de chlores n'induit pas de différence notable sur ces valeurs, elle ne renforcerait donc pas ces liaisons H intermoléculaires.

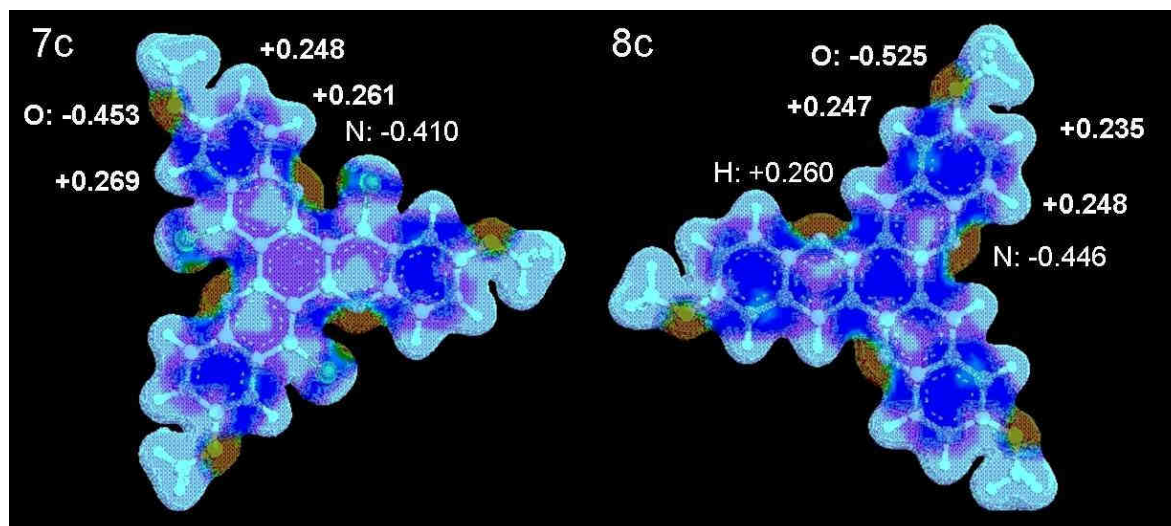


Figure 45. Représentations des potentiels électrostatiques sur les surfaces de densité électronique de **7c** et **8c** (electrostatic potential (ESP) map, ArgusLab) et valeurs des charges partielles (en fraction de charge de l'électron e) calculées par Gaussian.

Les études précédentes de l'influence des halogènes sur les propriétés d'auto-assemblage des molécules organiques ont montré que l'introduction de chlores à la périphérie d'une phtalocyanine de zinc entraîne une modification de l'auto-assemblage par formation de liaisons faibles C-H...Cl [108]. Ceci ne semble pas être le cas ici, vraisemblablement dû à la position des chlores dans la partie incurvée du cœur aromatique de la molécule. De la même manière, aucune liaison halogène (C-X...Atome électro-donneur comme N) [111] ne semble se former dans nos systèmes.

On peut dès lors envisager que les forces électrostatiques associées à la présence des chlores jouent un rôle dans le processus d'auto-assemblage comme cela a été montré dans le cas des halo-alcanes [107]. Les molécules s'assemblent de manière à minimiser les répulsions dues aux chlores, les réseaux nid d'abeille étant alors favorisés au détriment des réseaux plus denses imposant une plus forte proximité des cœurs aromatiques.

Enfin, les atomes de chlore liés au cœur aromatique doivent augmenter les interactions molécule-substrat [108] et forcer l'adsorption des molécules à des sites spécifiques du graphite. En effet, le chlore est un atome électronégatif et il augmente la densité électronique

globale à la périphérie du cœur aromatique, ce qui pourrait renforcer les interactions de Van der Waals avec le graphite.

L'observation d'une influence claire des atomes des chlores sur la cinétique d'auto-organisation (beaucoup plus rapide dans le cas des dérivés chlorés) pourrait corroborer cette hypothèse. Des calculs *ab initio* sont en cours afin de rationaliser ces observations.

Ainsi, la présence d'atomes de chlores sur le cœur aromatique des TrisK doit augmenter significativement les interactions molécule-substrat et induire des contraintes au niveau des sites d'adsorption des molécules sur le graphite et des interactions molécule-molécule. Les interactions chaînes-chaînes et chaînes-substrat qui gouvernent la formation d'assemblages denses en rangées doivent donc être plus fortes (ce qui devient le cas ici pour seize carbones) pour contrebalancer ces autres contributions.

III. Influence du nombre de chaînes.

Les dérivés TrisKs à six chaînes synthétisés (Figure 46) nous permettent d'étudier l'influence du nombre de chaînes par molécule sur leurs propriétés d'auto-assemblage. Les observations réalisées au cours du paragraphe précédent nous ont amenés à choisir une longueur de chaîne de douze carbones pour les premiers membres de cette famille à six chaînes. En effet, à cette longueur de chaînes, on peut envisager que ces dérivés forment déjà des structures linéaires compactes.

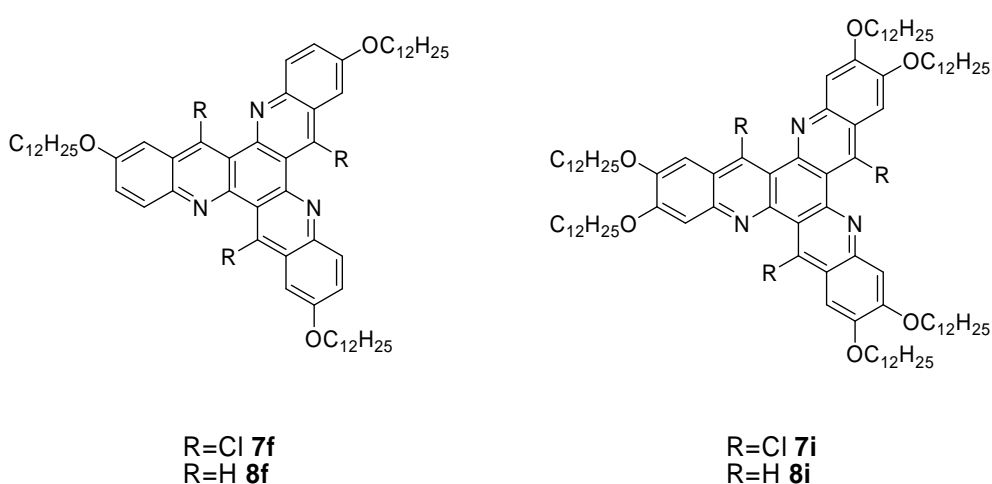


Figure 46. Structures des TrisKs trisubstitués **7f** , **8f** et des TrisKs hexasubstitués **7i**, **8i**.

-TrisK hexasubstitué 'non chloré' **8i** :

Le dérivé hydrogéné **8i** forme une monocouche progressivement observable par STM. Il est plus difficile d'imager correctement cette dernière avec une bonne résolution, elle semble moins stable ou plus mobile sur le substrat. L'utilisation du phényloctane à la place du n-tétradécane comme solvant de dépôt ne modifie en rien l'arrangement formé. De grands domaines auto-organisés de différentes orientations sont observés. L'auto-assemblage est basé sur la formation de dimères de molécules **8i** disposées tête-bêche. Les deux molécules constituant le dimère n'ont pas le même contraste STM indiquant des sites d'adsorption non équivalents sur le graphite. Ces dimères physiques forment ensuite des rangées alternées des deux espèces constitutives du dimère (en zig-zag). Sur les images STM de cette monocouche (Figure 47) les cœurs aromatiques sont bien visibles et l'on distingue les chaînes alkyles enchevêtrées, disposées selon deux directions (à 120° l'une de l'autre) pour lesquelles la résolution obtenue est variable. La formation de dimères entraîne la rupture de la symétrie C_3 des molécules. La maille élémentaire de cet arrangement, définie sur l'image haute résolution de la Figure 47 a pour paramètres: $a=47.9\pm 2\text{\AA}$, $b=55.0\pm 2.5\text{\AA}$, $\theta=90.3\pm 1^\circ$. Le modèle proposé respecte l'ensemble des critères habituels et aboutit à des paramètres de maille en accord avec les valeurs expérimentales: $a=46.6\text{\AA}$, $b=55.6\text{\AA}$, $\theta=90^\circ$.

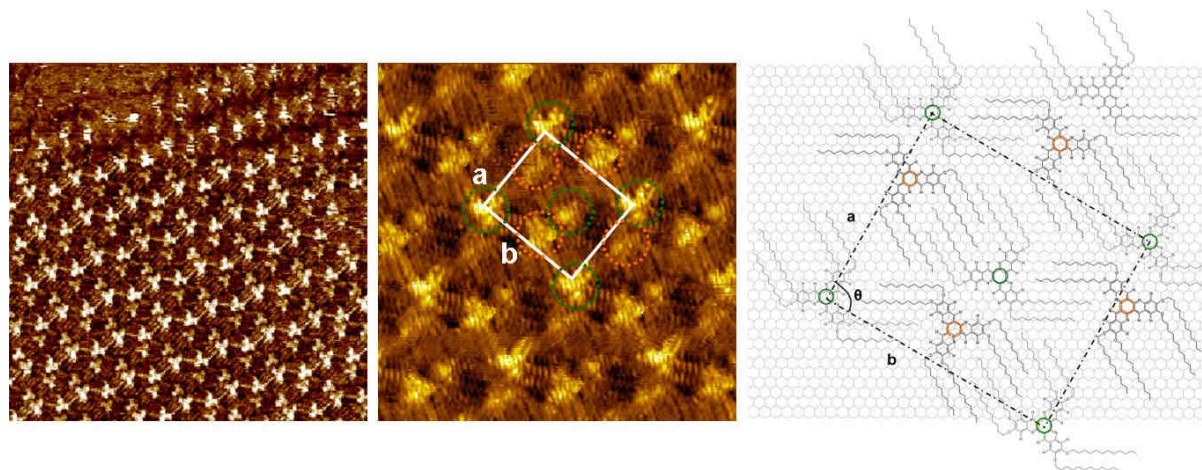


Figure 47. Images STM de la monocouche auto-assemblée formée par **8i** sur graphite. Gauche: (tétradécane) $V_t=-0.257\text{V}$, $I_t=20\text{pA}$, $40.5\times 40.5\text{nm}^2$. Milieu: (phényloctane) $V_t=-0.185\text{V}$, $I_t=74\text{pA}$, $17.5\times 17.5\text{nm}^2$. Droite: Modèle correspondant. La maille élémentaire est représentée en blanc sur l'image STM et en pointillés noirs sur le modèle, les cercles verts et orange indiquent les deux orientations observées des cœurs aromatiques.

L'ajout de trois chaînes supplémentaires sur le cœur aromatique du TrisK entraîne donc l'apparition d'un nouvel arrangement de dimères en zig-zag gouverné par les interactions de type Van der Waals introduites par les chaînes alkyles supplémentaires.

-TrisK hexasubstitué chloré **7i** :

Le dérivé chloré correspondant **7i** forme une monocouche imagée immédiatement sur le graphite. L'auto-assemblage formé est également constitué de rangées de dimères mais ils y sont cette fois-ci orientés 'tête-tête' (dans la même direction). Trois orientations distinctes (à 120° les unes des autres) sont observables au sein de larges domaines (jusqu'à 100nm²) recouvrant le substrat (Figure 48, gauche). L'image haute résolution de la Figure 48 montre plus précisément comment s'assemblent les dimères. Ils s'alignent selon leur axe principal (noté ici \vec{b}) où ils semblent être liés par l'interaction de chaînes alkyles; on distingue en effet selon cette direction deux chaînes au fort contraste STM entre chaque dimère. Les rangées ainsi formées s'assemblent par l'enchevêtrement des autres chaînes alkyles orientées à ~90° par rapport à l'axe principal des dimères. La maille définie pour cet arrangement est représentée sur l'image haute résolution au centre en Figure 48 (paramètres $a=29.8\pm1.5\text{\AA}$, $b=44.7\pm2.2\text{\AA}$, $\theta=68\pm1.5^\circ$). Le modèle proposé pour cet arrangement satisfait les distances mesurées (dans la gamme des erreurs expérimentales, avec $a=32.1\text{\AA}$, $b=44.9\text{\AA}$, $\theta=67^\circ$) mais ne répond pas à toutes les observations :

- Nous avons représenté quatre chaînes entre deux dimères selon leur axe principal \vec{b} . Seules deux sont visibles sur l'image STM. Il semble donc probable que celles que nous avons encadrées en orange sur le modèle ne s'adsorbent pas sur le graphite. Le fort contraste observé pourrait provenir de leur mode d'adsorption particulier ; en effet elles ne suivent pas ici un axe principal <100> du substrat.

- Selon la direction \vec{a} , l'image STM montre des chaînes alkyles au contraste STM plus fort que les autres entre deux dimères. Ces chaînes correspondraient à celles encadrées en vert sur le modèle qui ne fournit pas d'explication à ce contraste particulier.

- Enfin, sur l'image haute résolution, on peut compter neuf chaînes alkyles enchevêtrées dans la maille élémentaire. Dans notre modèle, il y en a huit provenant des molécules **7i** la constituant et formant une petite cavité. On peut ainsi envisager la coadsorption d'une molécule de solvant tétradécane dans la maille (encadrée en violet sur le modèle).

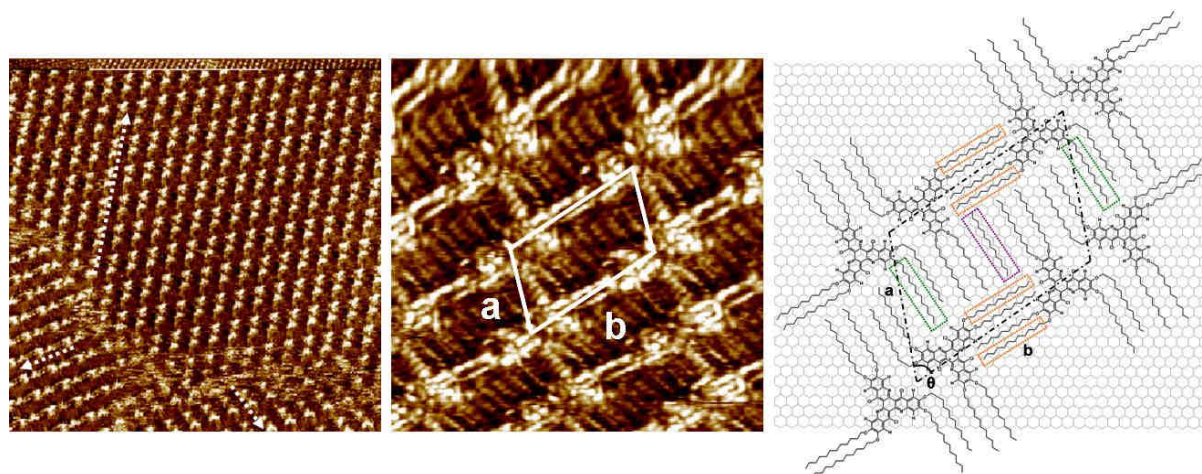


Figure 48. Images STM de la monocouche auto-assemblée formée par **7i** sur graphite (tétradécane). Gauche: $V_t = -0.3\text{V}$, $I_t = 47\text{pA}$, $60.0 \times 60.0\text{nm}^2$, les trois orientations sont indiquées par des flèches blanches. Milieu: image haute résolution $V_t = -0.205\text{V}$, $I_t = 20\text{pA}$, $12.2 \times 12.2\text{nm}^2$, la maille élémentaire est représentée en blanc. Droite: Modèle correspondant.

Un arrangement similaire a été observé pour les [18]-DBA substitués en OC_{10} (Figure 49, [97]) et pour les tristilbènes 3,4- OC_{10} [112] à l'interface phényloctane/graphite. Les modèles proposés ne semblent cependant pas correspondre à notre cas.

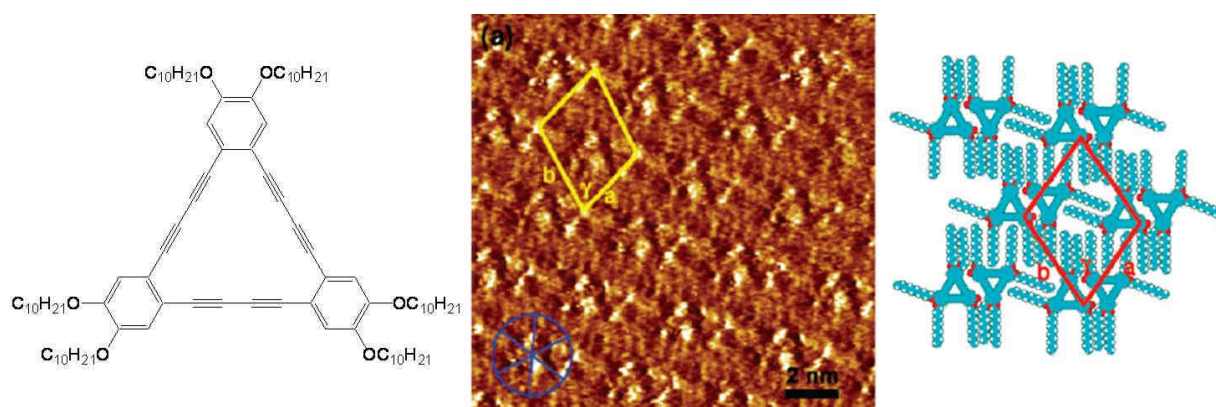


Figure 49. Structure du [18]-DBA- OC_{10} , (a) image STM de la monocouche à l'interface phényloctane/HOPG, $V_t = -1.30\text{V}$, $I_t = 0.20\text{nA}$ et modèle correspondant $a = 3.2\text{nm}$, $b = 3.5\text{nm}$, $\gamma = 69^\circ$ (d'après [97]).

L'ajout de trois chaînes supplémentaires à douze carbones sur le cœur aromatique du TrisK chloré conduit au passage d'un auto-assemblage en nid d'abeille reflétant la symétrie des molécules à un arrangement en rangées basé sur la formation de dimères et la maximisation des interactions chaînes-chaînes et chaînes-substrat. Le tableau ci-dessous compare les mailles des arrangements formés par les TrisKs à trois chaînes **8f** et **7f** avec ces dérivés à six chaînes **8i** et **7i**. Si le comportement des dérivés TrisKs à six chaînes **7i** et **8i** (chloré ou hydrogéné) est ici identique, il en résulte néanmoins une monocouche différente. Les interactions cœur-

substrat et cœur-cœur constituent donc toujours une contribution importante dans l'auto-assemblage de ces molécules.

TrisK	paramètres de l'auto-assemblage				
	Réseau	a (Å)	b (Å)	angle (deg)	Z
3 chaînes					
8f	rangées (quasi-rectangulaire)	20.5 +/-1	47.5 +/-2	90.3 +/-3	2
	rangées (parallélogramme)	29.5 +/-1	30.5 +/-1	76.0 +/-2	2
	rangées (quasi-rectangulaire)	29.1 +/-1.4	51.5 +/-2.5	92.7 +/-2	4
	nid d'abeille	31.0 +/-1.5	31.0 +/-1.5	60.7 +/-1	2
6 chaînes					
8i	dimères zig-zag	47.9 +/-2	55.0 +/-2.5	90.3 +/-1	4
7i	dimères rangées	29.8 +/-1.5	44.7 +/-2.2	68 +/-1.5	2

Tableau 4. Résumé des mailles des arrangements observés pour les TrisK **7f**, **8f** et **7i**, **8i**. Z est le nombre de molécules par maille

L'adsorption de tétradécane dans l'arrangement formé par **7i** est corroborée par les résultats obtenus pour cette molécule à partir d'une solution dans le phényloctane. La monocouche obtenue est alors totalement différente : le TrisK **7i** forme deux types très proches d'arrangements linéaires notés α et β (Figure 50, gauche). On remarque des domaines de différentes orientations pour ces deux phases. Dans la phase linéaire α , deux molécules se suivant dans une même rangée ont la même orientation et les molécules de deux rangées voisines ont une orientation antiparallèle. Deux rangées voisines sont caractérisées par un contraste STM très différent : une rangée présente un contraste très fort, l'autre un contraste très faible. On peut donc supposer que leurs molécules sont adsorbées sur des sites non équivalents du substrat. On distingue sur les images (Figure 50a) que les chaînes situées dans les travées (espaces compris entre les rangées de cœurs aromatiques) sont respectivement orientées à 120° les unes des autres. Si la résolution atteinte ne permet pas de déterminer leur nombre et leur position, elles sont supposées s'adsorber le long des axes de symétrie principaux du graphite. Les paramètres de maille de cet arrangement définie sur l'image sont : $a=22.0\pm1\text{Å}$, $b=55.6\pm2\text{Å}$, $\theta=79.2\pm1.5^\circ$. En raison du manque de résolution des chaînes alkyles, nous n'avons pas pu construire de modèle satisfaisant pour cet arrangement. On peut néanmoins envisager un assemblage des molécules similaire à la phase α observée avec les TrisKs **8f** et **7g**. D'autre part, au vu des dimensions mesurées dans cette structure, il semble impossible que les six chaînes de chaque molécule puissent toutes s'adsorber sur le substrat. La phase β a une structure en rangées quasiment identique à la phase α . La seule différence réside dans la régularité des rangées. Dans la phase α , les molécules sont équidistantes les unes des autres au sein d'une ligne. Dans la phase β par contre, on note un espacement plus

grand toutes les deux molécules, il en résulte ainsi des rangées de ‘quartets’ (Figure 50β). On peut ainsi envisager une troisième orientation pour les chaînes alkyles entre deux ‘quartets’ voisins. La nouvelle maille définie pour cet arrangement a pour paramètres : $a=52.3\pm1.5\text{\AA}$, $b=61.2\pm2\text{\AA}$, $\theta=61.2\pm1.2^\circ$. Cette phase β présente de nombreux défauts. La phase α en présentant également parfois dans la régularité des rangées il n’est pas toujours évident de les distinguer l’une de l’autre.

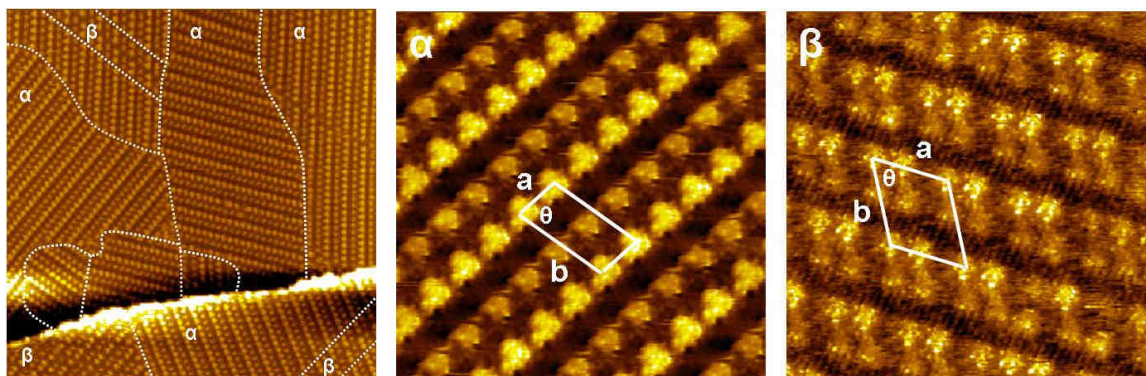


Figure 50. Images STM de la monocouche auto-assemblée formée par **7i** sur graphite (phényloctane). Gauche: $V_t=0.287\text{V}$, $I_t=22\text{pA}$, $120.7\times120.7\text{nm}^2$, les domaines sont délimités par des pointillés blancs. Milieu: image haute résolution de la phase α , $19.7\times19.7\text{nm}^2$. Droite : image haute résolution de la phase β , $25.4\times25.4\text{nm}^2$. Les mailles élémentaires sont représentées en blanc.

Pour le TrisK **7i**, la coadsorption d’une molécule de tétradécane dans la maille permet donc la formation d’un auto-assemblage formé de rangées de dimères, dans lequel la majorité des chaînes alkyles peuvent s’adsorber sur le substrat, maximisant ainsi les interactions favorables de Van der Waals. L’utilisation du phényloctane rend cette inclusion de solvant impossible et conduit à la formation de deux arrangements linéaires de structures très proches. Dans ce cas un nombre plus faible de chaînes peut s’adsorber sur le graphite. Ce type d’arrangements linéaires a déjà été observé pour des molécules de symétrie C_3 à six chaînes [97]. Cet exemple montre l’importance des phénomènes de coadsorption sur les auto-assemblages bidimensionnels de molécules organiques.

IV. Sonder les états électroniques.

En première approximation, le STM permet d’obtenir des images dans l’espace direct des densités locales d’états électroniques. Les états sondés dépendent des paramètres de la jonction tunnel, i.e. courant et tension appliqués entre la pointe et l’échantillon. La possibilité

d'imager les orbitales de molécules déposées sur des surfaces est relatée dans de nombreuses études.

Des images STM de haute résolution reproductibles ont été obtenues avec la molécule **8f** (Figure 51A). On y reconnaît des formes triangulaires ou étoilées brillantes correspondant au cœur conjugué de la molécule. A l'intérieur de ces formes, on distingue des sous-structures qui correspondent à des variations de densités locales d'états électroniques.

Les orbitales moléculaires calculées par DFT pour la molécule modèle **8c** sont représentées Figure 51B. La molécule présente une orbitale HOMO (Highest occupied molecular orbital) triplement dégénérée, une orbitale LUMO (Lowest unoccupied molecular orbital) seule et deux orbitales LUMO+1 dégénérées d'énergie très légèrement supérieure.

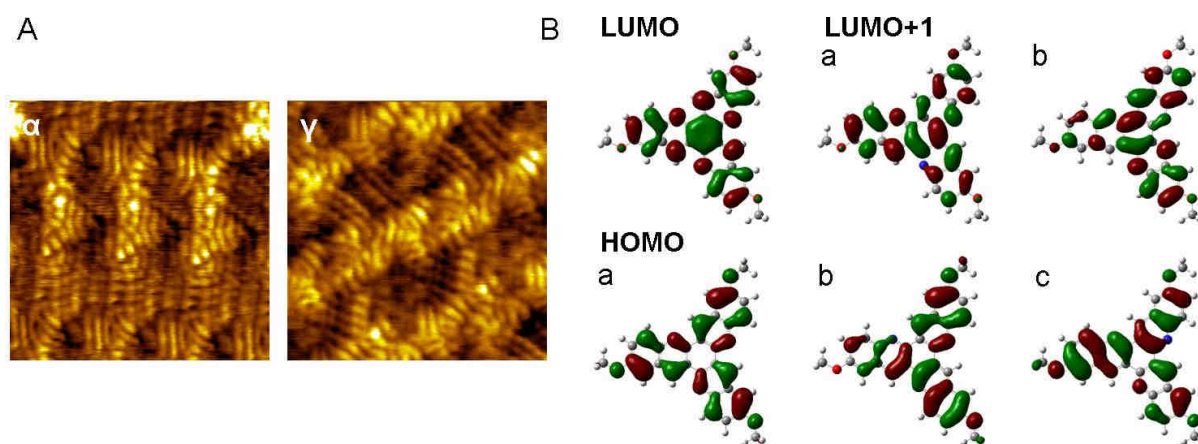


Figure 51. **A.** Images hautes résolutions des arrangements α et γ formés par **8f**, $V_t=0.133\text{V}$, $I_t=100\text{pA}$, $7.7\times 7.7\text{nm}^2$ et $6.5\times 6.5\text{nm}^2$ respectivement. **B.** Orbitales moléculaires frontières calculées pour **8c** (niveau HOMO (composante a: symétrie A'' , composantes b et c: symétrie E'' , -0.199 a.u.), niveau LUMO (a: symétrie A'' , -0.067 a.u.) et niveau LUMO+1 (composantes b et c: symétrie E'' , -0.053 a.u.)).

En comparant ces orbitales avec les images STM et en omettant la probable contribution du substrat, il semble que la représentation de la LUMO+1 soit une bonne approximation des images (Figure 52) (l'observation d'un niveau LUMO dans nos conditions expérimentales semble par ailleurs envisageable).

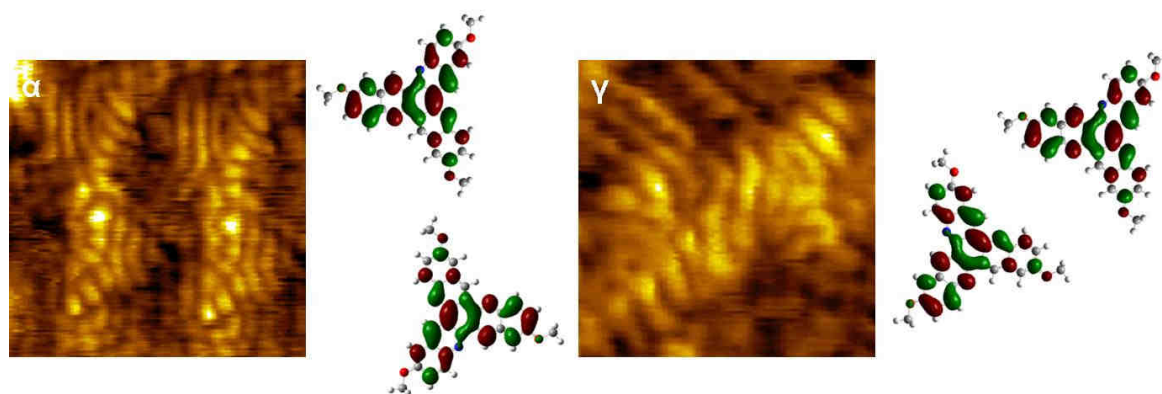


Figure 52. Comparaisons des images STM des phases α et γ de **8f** (redimensionnées) et des orbitales LUMO+1a correspondantes.

Au vu de la symétrie des orbitales, il semble impossible de déterminer avec précision sur quelle face la molécule est adsorbée sur le graphite et donc la position des azotes intracycliques. Celle-ci a d'ailleurs toujours été choisie arbitrairement pour la construction de nos modèles, de manière à respecter au mieux les caractéristiques observées des arrangements. De telles comparaisons n'ont pas pu être effectuées avec les dérivés chlorés **7** du fait d'une résolution STM moins fine. Enfin, ces hypothèses sur l'imagerie d'un niveau LUMO ne sont que qualitatives et basées sur des comparaisons visuelles. Des expériences de spectroscopie à effet tunnel sont nécessaires pour étudier la configuration de notre jonction.

V. Chiralité des monocouches formées par les TrisKs.

Comme nous l'avons déjà évoqué, les TrisK sont des molécules prochirales. En effet, de par la position des azotes intra-cycliques, elles ne possèdent pas d'axe de symétrie et présentent donc deux faces énantiotopes (Figure 53). L'adsorption de molécules ainsi dissymétriques sur une surface achirale conduit en général localement à la formation de structures chirales bidimensionnelles (selon que la molécule s'adsorbe sur une face ou sur l'autre). Les images STM ne nous permettant pas de différencier les deux faces d'une molécule, ce type de chiralité de surface n'a pas été identifié.

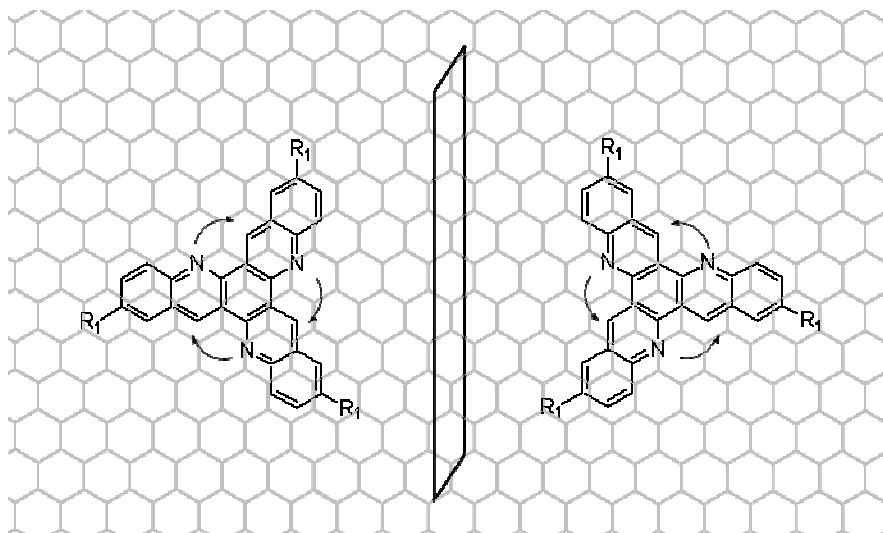


Figure 53. Représentation schématique de la prochiralité des molécules TrisK.

La formation de domaines chiraux localisés a également été observée pour des molécules de symétrie C_3 achirales [113]. En particulier, les molécules aromatiques étendues fonctionnalisées par de longues chaînes alkyles sont souvent caractérisées par une rupture de symétrie due à la formation de rangées de dimères chirales. C'est ainsi le cas des décacyclènes [88], des triphénylènes [83, 113] et des tristilbènes [78] dont les structures ont été présentées en introduction de cette partie.

De la même façon, nous avons pu mettre en évidence des domaines énantiomères dans certaines monocouches formées par nos TrisKs. Le premier exemple a été observé dans la phase en rangées α formée par les TrisKs **8f** et **7g**. La Figure 54 représente deux images STM de deux domaines distincts observés pour **7g**. Ces domaines ne peuvent pas se déduire l'un de l'autre par une simple rotation, ils sont images l'un de l'autre dans un miroir (matérialisé sur la Figure 54 en pointillés) et sont donc énantiomères. Il en est de même pour les deux domaines de la monocouche formée par **7i** dans le tétradécane, représentés Figure 54.

Nous n'avons pas observé ce caractère chiral pour tous les arrangements formés par les TrisKs. Ainsi, nos images ne montrent pas de domaines énantiomères pour la phase en rangées γ formée par **8f** et **8g**. Dans les cas des réseaux en nid d'abeille formés par **7e-g** ou du réseau linéaire formé par **7i** dans le phényloctane, l'absence de résolution des chaînes alkyles nous empêche de conclure. Les interactions molécule-substrat ont un rôle majeur dans l'apparition d'un caractère chiral dans ces monocouches, cette chiralité étant due en particulier à l'orientation des chaînes alkyles sur le graphite.

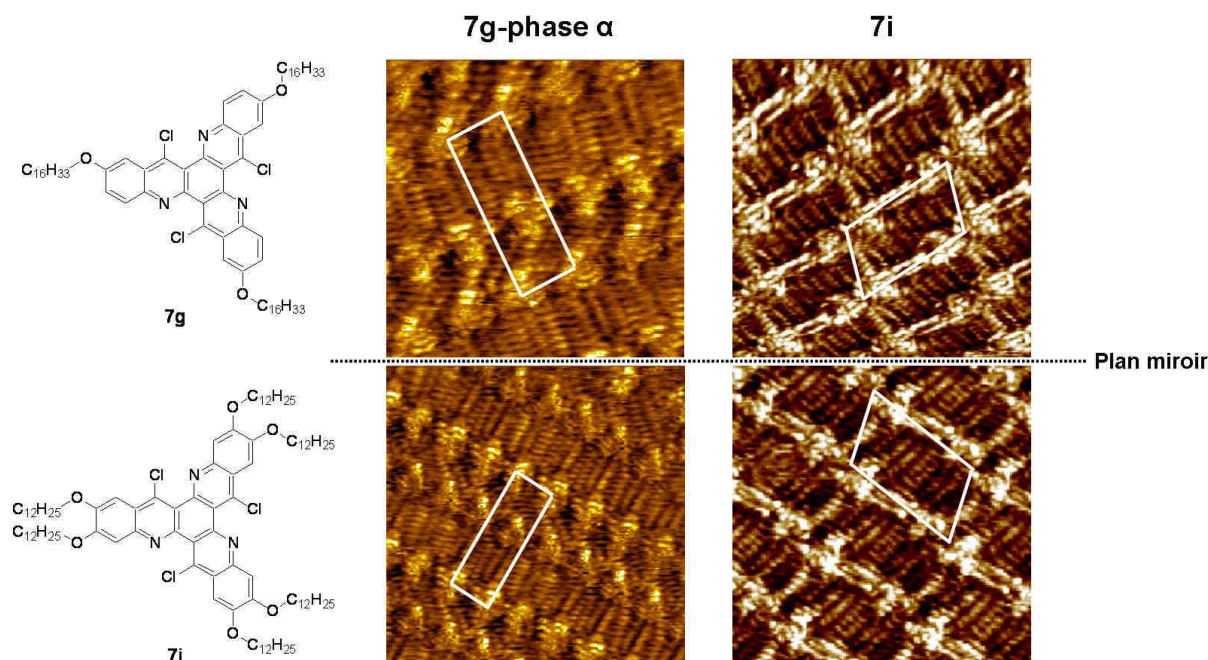


Figure 54. Domaines énantiomères observés pour la phase α de la monocouche formée par **7g** ($V_t = -0.177V$, $I_t = 24pA$, $8.8 \times 8.8nm^2$ (haut) et $13.3 \times 13.3nm^2$ (bas)) et pour la monocouche formée par **7i** dans le tétradécane ($V_t = -0.205V$, $I_t = 20pA$, $12.2 \times 12.2nm^2$ (haut) et $V_t = -0.268V$, $I_t = 19pA$, $10.5 \times 10.5nm^2$ (bas)).

VI. Conclusions

Nous avons montré dans ce paragraphe que la quasi-totalité de nos dérivés TrisKs forment des auto-assemblages stables sur graphite d'une très grande diversité. La longueur des chaînes alkyles, leur nombre ainsi que des substitutions supplémentaires sur le cœur aromatique telles que l'introduction de chlores ont une très forte influence sur l'organisation des réseaux formés. Celle-ci est due à la modification des interactions molécule-molécule et molécule-substrat et de leurs respectives contributions.

Il reste encore beaucoup d'études à réaliser pour mieux comprendre et exploiter ce système, et en particulier :

- utiliser les réseaux en nids d'abeille formés par les molécules **7e** et **7f** comme système hôte. Ceci pourrait également permettre de comprendre précisément l'organisation de molécules au sein de ce réseau,
- réaliser des expériences de spectroscopie tunnel afin de mieux caractériser notre système.

La liste des expériences à mener est longue pour exploiter ces composés qui présentent une grande variété de comportements. La synthèse mise au point pour ces molécules permet une variation aisée des substituants portés par le cœur aromatique. Nous pourrions ainsi envisager

une étude systématique de l'influence des halogènes, encore peu étudiée, par la modification de l'étape de cyclisation.

Les TrisKs forment des monocouches auto-assemblées bidimensionnelles mais qu'en est-il de leurs propriétés en solution ? Ont-ils un comportement de cristal liquide, ou des propriétés de transport ? Le Chapitre suivant rapporte les caractérisations tout à fait préliminaires que nous avons réalisées pour tenter de répondre à ces questions.

Chapitre 3 : vers des caractérisations de propriétés en solution des TrisKs

I. Propriétés électroniques

Les propriétés d'absorption UV et d'émission de fluorescence des dérivés TrisKs ont été étudiées. Tous les composés présentent un maximum d'absorption dans la gamme 290-320nm et de larges coefficients d'extinction molaire ϵ (de 70000 à 100000 L.mol⁻¹cm⁻¹) dans le chloroforme. La Figure 55 représente les spectres d'absorption UV en solution des dérivés **7** et **8 a,b,f** (caractéristique des dérivés trisubstitués alkoxy) et **i**. On peut voir sur ces spectres l'influence des groupements donneurs sur l'absorption des TrisKs qui se manifeste par un shift bathochromique.

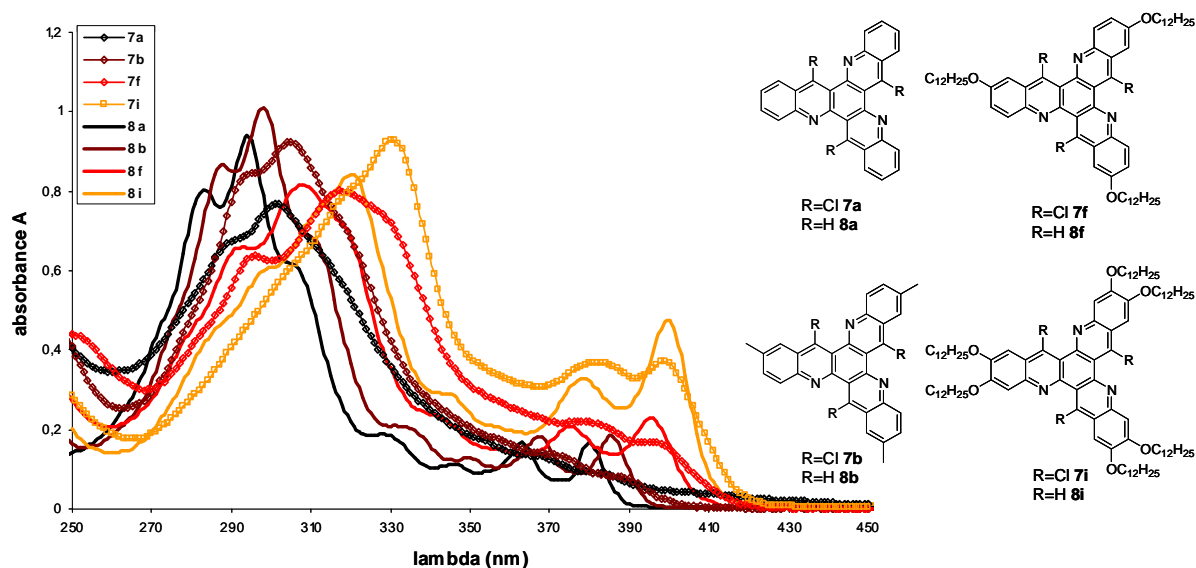


Figure 55. Spectres d'absorption UV des TrisKs chlorés **7a,b,f,i** et non-chlorés **8a,b,f,i** (10 µM) dans le chloroforme.

Les spectres d'émission de fluorescence des TrisK **8a,b,f,i** sont représentés Figure 56. Les molécules TrisK sont caractérisées par un déplacement de Stokes élevé (90-120nm). Les dérivés chlorés **7** présentent une émission de fluorescence beaucoup plus faible que les dérivés non-chlorés **8**, phénomène classiquement observé ; ils ne sont donc pas présentés ici.

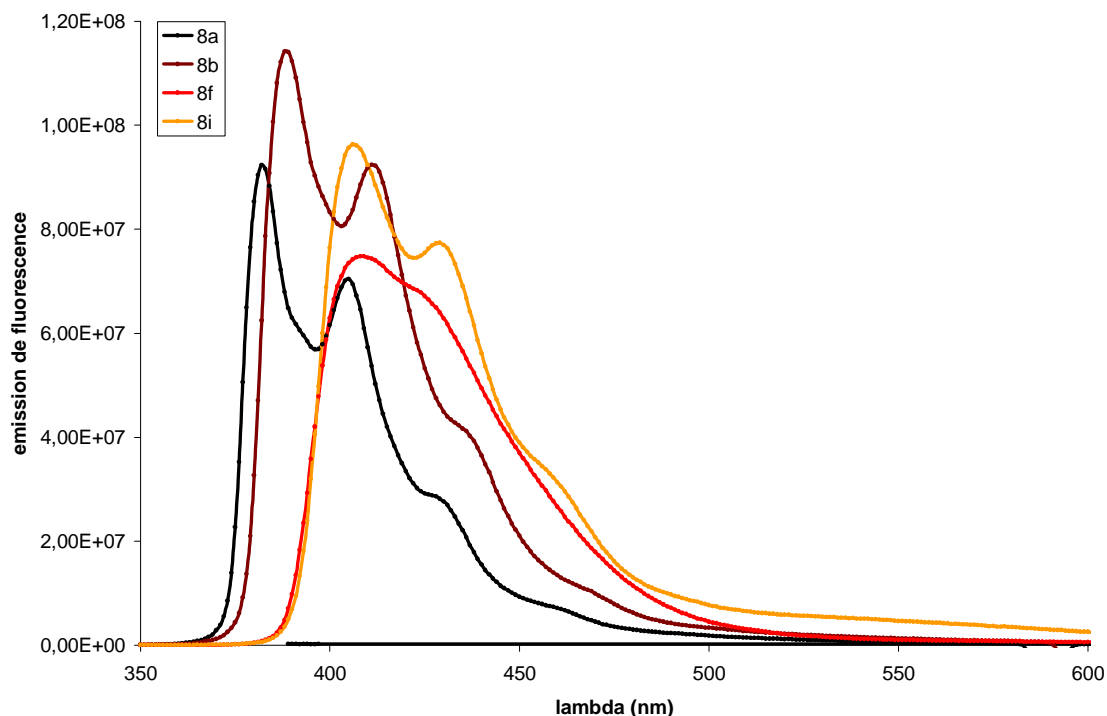


Figure 56. Spectres d'émission de fluorescence des TrisKs **8a,b,f,i** (1 μ M) dans le chloroforme.

Les TrisKs **8** présentant une forte émission, nous avons déterminé leur rendement quantique de fluorescence. Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau 5.

	λ_{abs} (nm)	ϵ (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	λ_{fluo} (nm)	Φ_F
8a	303	93900	382	0,43
8b	298	101100	389	0,48
8f	308	81700	408	0,58
8i	320	84350	408	0,73

Tableau 5. Données spectroscopiques des TrisKs **8**.

Avec des rendements quantiques de 0.58 et 0.73 pour les TrisKs portant trois et six chaînes alkoxy respectivement (**8f** et **8i**), ces molécules s'avèrent être de bons fluorophores.

Les mesures d'absorption UV donnent une bonne estimation du gap HOMO-LUMO (E_g) des molécules. Différentes méthodes de détermination de ce gap à partir des spectres d'absorption UV sont décrites dans la littérature [114-116]. Nous avons utilisé la méthode décrite par Séguy et ses collaborateurs [115], utilisant l'équation (1) :

$$(1) \quad Ah\nu \approx (h\nu - E_g)^{1/2}$$

avec A l'absorbance et $h\nu$ l'énergie du photon en eV. Celle-ci est calculée à partir de la longueur d'onde par $h\nu = \frac{hc}{\lambda}$ avec h la constante de Planck et c la vitesse de la lumière.

La Figure 57 représente le tracé de A^2 en fonction de $h\nu$ pour le TrisK **8i** (à titre d'exemple). La valeur du gap E_g est déterminée par extrapolation de la partie linéaire du tracé à l'absorption nulle ($Ah\nu=0$).

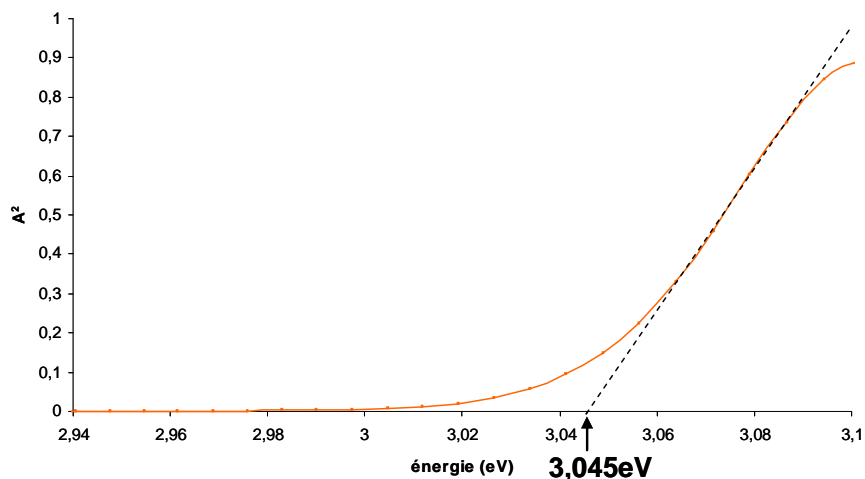


Figure 57. Tracé de A^2 en fonction de l'énergie $h\nu$ pour le TrisK **8i**.

Nous avons ainsi déterminé les valeurs du gap HOMO-LUMO pour les dérivés à chaînes en C12 **7f,i** et **8f,i**. Par ailleurs, les valeurs trouvées pour **7f** et **8f** sont comparées à celles données par les calculs DFT, qui s'avèrent surestimées. Toutes ces données sont résumées dans le Tableau 6.

	gap HOMO-LUMO (eV)	
	mesuré	calculé
7f	3,04	3,67
8f	3,08	3,73
7i	3,02	- ^a
8i	3,045	-

Tableau 6. Valeurs des gaps HOMO-LUMO (eV) mesurés et calculés des TrisK **7f,i** et **8f,i**. ^a valeurs non calculées.

Une estimation de ce gap est également accessible par spectroscopie tunnel en étudiant les caractéristiques courant-tension de l'échantillon sous la pointe STM. Il serait intéressant de comparer les valeurs obtenues par cette autre méthode à celles que nous avons estimées.

Les énergies des niveaux HOMO et LUMO de ces mêmes dérivés ont été estimées par voltamétrie cyclique en utilisant le ferrocène comme référence. Le protocole utilisé est détaillé en partie expérimentale. La solubilité des TrisKs impose de réaliser ces études de voltamétrie cyclique dans le dichlorométhane. La gamme de potentiels accessible est par conséquent un peu moins étendue que dans l'acétonitrile ou le DMSO par exemple. Le voltamogramme obtenu pour l'électrolyte seul (Figure 58, gauche) indique de bonnes conditions de mesure (réversibilité, absence de processus redox parasites). Sur le voltamogramme de la Figure 58 droite sont représentés les résultats obtenus pour le couple ferrocène/ ferrocinium Fc/Fc^+ dans nos conditions expérimentales. Nous observons bien un pic de réduction et un pic d'oxydation, correspondant à un processus réversible. Le potentiel d'oxydation mesuré du ferrocène est $V=0.168\text{V}$.

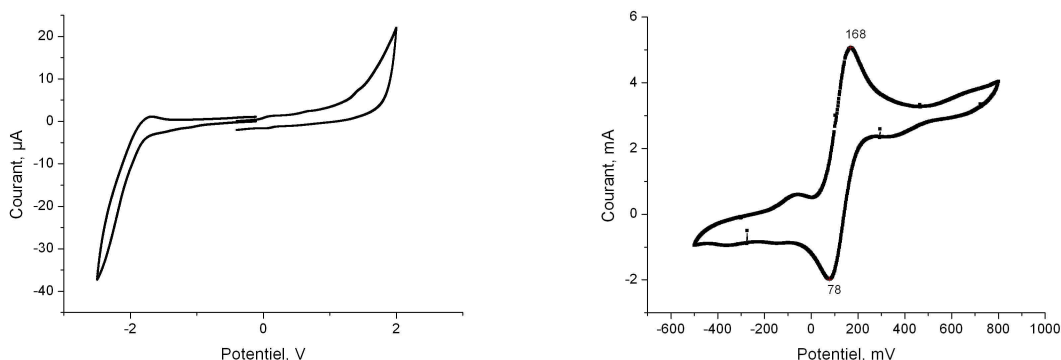


Figure 58. Voltamogrammes obtenus pour l'électrolyte seul (gauche) et pour le ferrocène (droite).

Le voltamogramme obtenu avec le dérivé chloré **7f** (substitué par trois chaînes en C12) est représenté Figure 59 gauche. Nous pouvons distinguer trois vagues d'oxydation 1, 2 et 3 situées respectivement à 1.09, 1.33 et 1.6V mais pas de réduction dans la gamme de potentiels accessible. Dans le cas du dérivé non-chloré correspondant **8f**, le voltamogramme a une allure similaire (Figure 59 droite). Un premier pic d'oxydation 1 est bien visible à 1.0V, les deux autres 2 et 3 sont repérables par des faibles épaulements à des valeurs de 1.37V et 1.65V respectivement. Ici, un très faible épaulement de réduction 4 est observé à environ -1.3V.

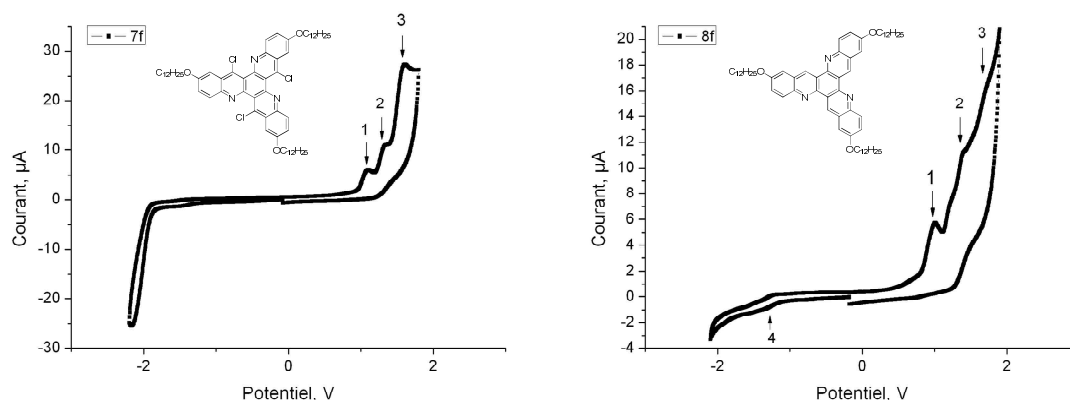


Figure 59. Voltammogrammes de **7f** (gauche) et **8f** (droite) (1mM dans le dichlorométhane).

Dans le cas du dérivé chloré **7i** (portant six chaînes en C12), le voltammogramme présente deux vagues d'oxydations 1 et 2 centrées respectivement à 1.44 et 1.69 V (Figure 60, gauche). Deux épaulements 3 et 4 sont observés à -1.1 et -1.6V. Ces pics peuvent correspondre à la formation d'un mono et d'un di-radical anion. Enfin, sur le voltammogramme du dérivé non-chloré correspondant **8i** (Figure 60 droite), deux pics d'oxydation 1 et 2 peuvent également être distingués, le dernier étant le plus marqué. Ces pics se situent à des potentiels de 0.76 et 1.37V. De la même manière que précédemment, un épaulement ici situé à -1.6V est visible.

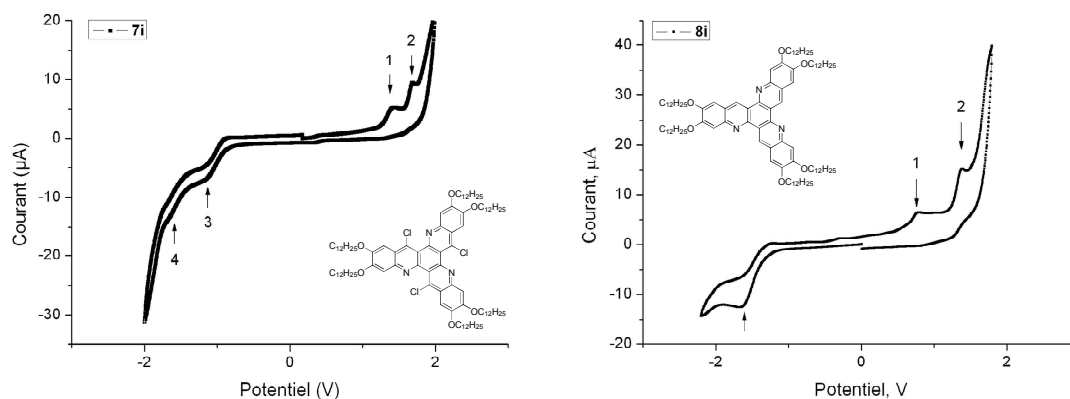


Figure 60. Voltammogrammes de **7i** (gauche) et **8i** (droite) (1mM dans le dichlorométhane).

Les potentiels relevés sur les voltammogrammes des quatre TrisKs étudiés sont résumés dans le Tableau 7 ci-dessous.

	Oxydation (V)	Réduction (V)
7f	1,09 1,33 1,6	
8f	1,0 1,37 1,65	-1,3
7i	1,44 1,69	-1,1 -1,6
8i	0,76 1,37	-1,6

Tableau 7. Potentiels redox des TrisKs déterminés par voltamétrie cyclique.

A partir des premiers potentiels d'oxydation nous pouvons déterminer l'énergie du niveau HOMO des ces composés à partir de (2) [115] :

$$(2) E_{HOMO}(TrisK) = E_{HOMO}(ferrocene) - [E_{ox}(TrisK) - E_{ox}(ferrocene)]$$

Avec $E_{HOMO}(ferrocene) = -4.8eV$ et $E_{ox}(ferrocene) = 0.168V$

A partir du gap estimé par UV et de l'énergie du niveau HOMO ainsi déterminée, nous pouvons calculer l'énergie du niveau LUMO. Les résultats de ces estimations sont résumés dans le Tableau 8.

	gap (eV)	HOMO (eV)	LUMO (eV)
7f	3,04	-5,72	-2,68
8f	3,08	-5,63	-2,55
7i	3,02	-6,07	-3,05
8i	3,05	-5,39	-2,35

Tableau 8. Valeurs des gaps et des énergies des niveaux HOMO et LUMO (eV) des TrisKs.

Nous pouvons comparer ces résultats à ceux obtenus avec des molécules de structure chimique proche des TrisKs, comme les hexaazatrinaphthylènes (HATNA) représentés sur la Figure 61 ci-dessous.

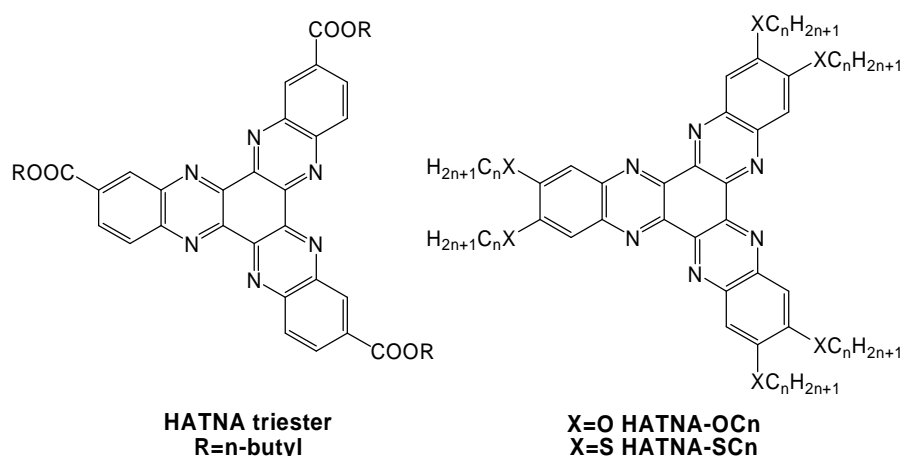


Figure 61. Structure générale des hexaazatrinaphthylènes.

L'énergie de la HOMO (E_{HOMO}) du composé HATNA-triester a été déterminée à -6.3eV par voltamétrie cyclique avec le ferrocène comme référence. L'énergie de la LUMO est alors déduite à partir de la valeur du gap de 2.9eV (déterminée par absorption UV) et vaut -3.4eV. L'injection d'électrons (d'électrodes métalliques ou d'autres couches organiques) dans HATNA-triester est favorisée par le niveau LUMO très bas (qui correspond à la bande de conduction des semi-conducteurs), alors que l'injection de trous est bloquée par un niveau HOMO bas (correspondant à la bande de valence) [114]. Dans les études concernant les HATNA hexa substitués -OC6 et -SC6, les énergies des niveaux orbitaux frontières ne sont pas déterminées par voltamétrie cyclique. Les auteurs s'intéressent particulièrement aux pics de réduction, enregistrés à partir de films minces des molécules. Ainsi la molécule HATNA-OC6 présente trois vagues de réduction à -1.25, -1.53 et -1.81V, associées aux pics d'oxydation correspondants (Figure 62 gauche) [117]. De manière similaire, la molécule HATNA-SC6 présente trois vagues de réduction centrées à -1.09, -1.35 et -1.60V mais aucun pic d'oxydation n'est observé en dessous de 2V (Figure 62 droite) [118]. De par la faible valeur du premier potentiel de réduction, les auteurs estiment que les électrons doivent être facilement injectés dans ces composés et que ces molécules sont de bons candidats en tant que transporteurs d'électrons.

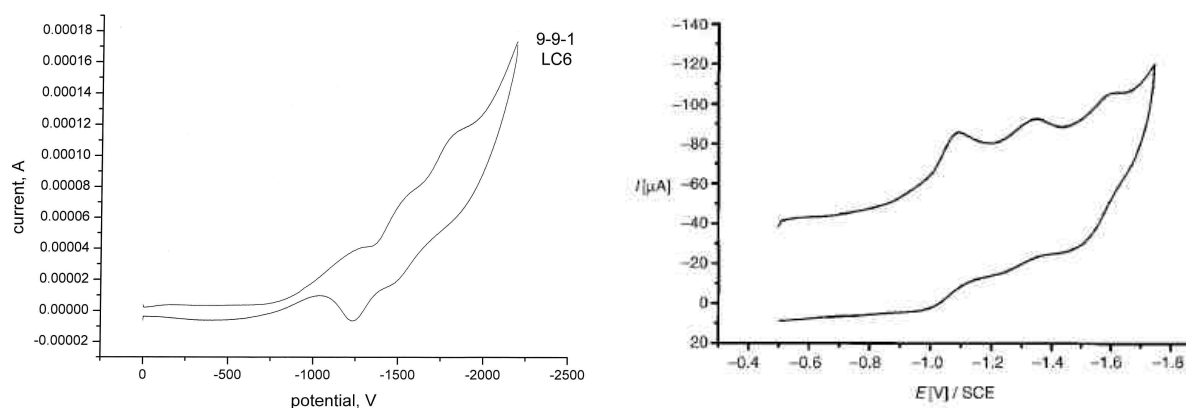


Figure 62. Voltamétrie cyclique des molécules HATNA-OC6 (gauche) et HATNA-SC6 (droite)

En conclusion, les énergies des orbitales frontières HOMO et LUMO que nous avons estimées pour les TrisKs **7f,i** et **8f,i** semblent cohérentes par rapport aux résultats rapportés pour des molécules de structures proches. Celles-ci présentent un comportement cristallin liquide et sont présentées comme de bons transporteurs d'électrons [53, 54]. Ainsi, si nos TrisKs ont bien des propriétés de cristaux liquides, (études préliminaires décrites au paragraphe suivant), il serait intéressant de caractériser leurs propriétés de transporteurs de charges.

II. Etudes préliminaires sur le comportement thermotropique des TrisKs

Nous avons étudié le comportement thermotropique des TrisKs à longues chaînes **7f,i** et **8f,i** par DSC (differential scanning calorimetry), premier pas dans la caractérisation de leurs éventuelles propriétés de cristaux liquides. Le protocole utilisé est décrit en partie expérimentale.

TrisK à trois chaînes **7f** et **8f** :

Les résultats obtenus pour le dérivé chloré **7f** sont présentés Figure 63. Les deux cycles thermiques effectués sont parfaitement superposables, les transitions étant par conséquent réversibles. Une première faible transition endothermique (3.18J/g soit 3.3kJ/mol) centrée à 71.4°C apparaît. Le pic de fusion à 105.2°C (50.8kJ/mol) est précédé par un très faible événement exothermique (95.8°C, 2.56kJ/mol). Aucune transition n'est visible à de plus hautes températures. Lors du refroidissement, le pic de cristallisation centré à 49.5°C présente

une plus faible enthalpie que celui de fusion ($41,5\text{kJ/mol}$). Ce composé est caractérisé par une surfusion d'environ 44°C .

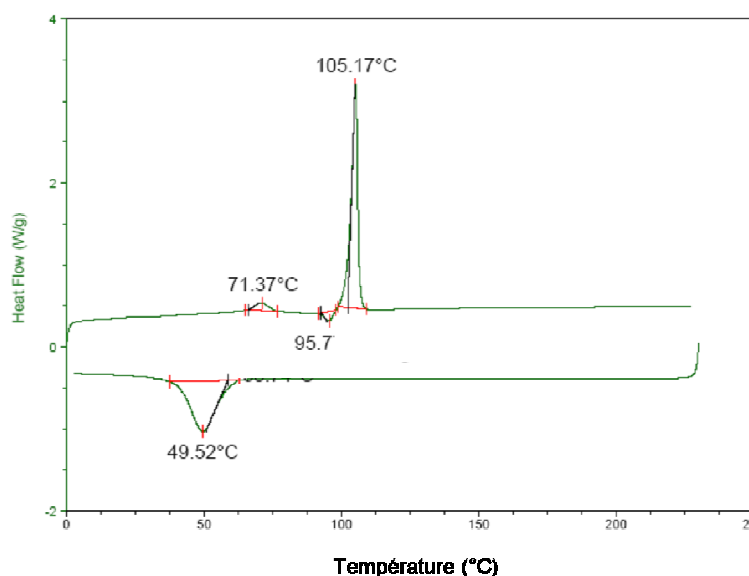


Figure 63. Courbe DSC du TrisK **7f**.

La courbe obtenue pour le dérivé **8f** présente un pic de fusion centré à 81.2°C lors du premier cycle. Aucun pic de cristallisation n'est observé lors du refroidissement.

TrisKs à six chaînes **7i** et **8i** :

Les résultats obtenus pour le dérivé chloré **7i** sont similaires à ceux observés pour le composé **7f**. La Figure 64 gauche représente le deuxième cycle enregistré. Nous avons cette fois un pic de fusion très net à 89.4°C avec une enthalpie de transition endothermique de 12.74J/g soit $20,3\text{kJ/mol}$. Encore une fois aucune autre transition n'est visible à de plus hautes températures. Le pic de cristallisation est centré sur 76.7°C avec une enthalpie de transition de 12.3J/g (ou $19,6\text{kJ/mol}$). Dans ce cas la surfusion est faible (13°C environ) et les enthalpies pour ces deux transitions sont quasiment égales.

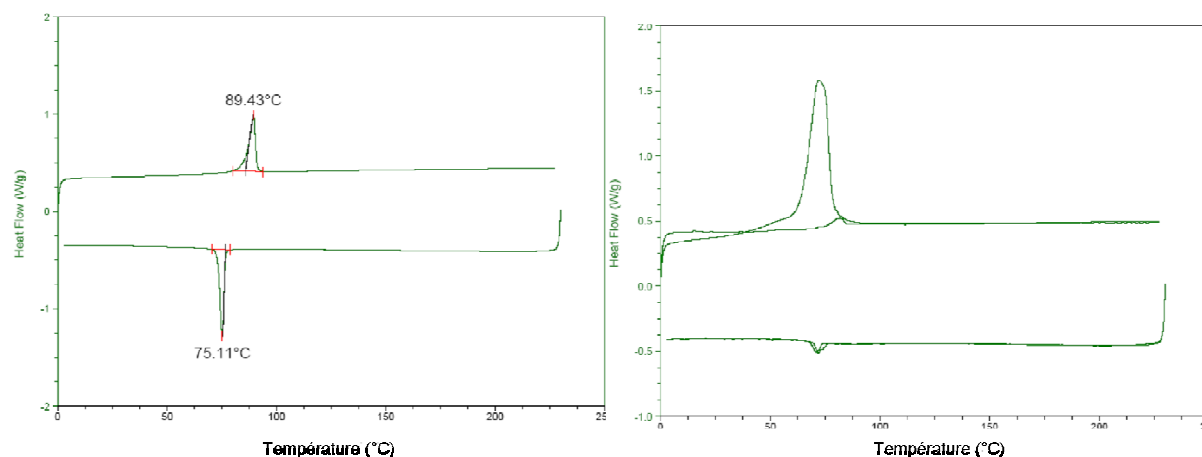


Figure 64. Courbes DSC des TrisK **7i** (gauche) et **8i** (droite).

Enfin les résultats obtenus avec le TrisK **8i** sont représentés en Figure 64 droite. Le pic de fusion du premier cycle est net. Ici encore, cette transition endothermique centrée à 72.4°C est large (63.8J/g soit 94.9kJ/mol). La courbe ne présente aucune nouvelle transition à plus haute température. Un pic de cristallisation de faible amplitude apparaît à 71.7°C avec une faible enthalpie exothermique de 1.73J/g (2.6kJ/mol). Le deuxième cycle fait apparaître un nouveau pic de fusion centré à 81.3°C avec une enthalpie très faible de 1.7J/g (2.53kJ/mol). Lors du deuxième refroidissement, le pic de cristallisation réapparaît, superposable au premier (70.6°C, 2.3kJ/mol).

A titre de comparaison, nous présentons ci-dessous les courbes DSC des molécules HATNA-OC12 et HATNA-SC12. Le composé HATNA-OC12 (Figure 65, gauche) présente des cycles de chauffage/refroidissement réversibles indiquant qu'il ne subit pas de dégradation thermique dans la gamme de température utilisée (0-230°C). Le composé passe d'une phase cristalline à une phase cristal liquide colonnaire. L'enthalpie de transition de la phase colonnaire à la phase isotrope est très faible, ce qui est représentatif d'une mésophase désordonnée [70].

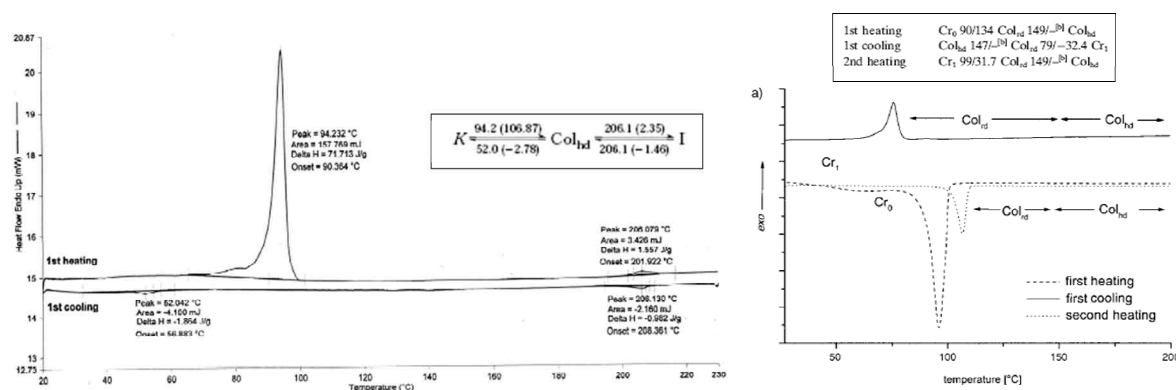


Figure 65. DSC des composés HATNA-OC12 (d'après [70]) et HATNA-SC12 (d'après [68]).

Pour la molécule HATNA-SC12, certaines transitions à haute température ne sont pas visibles en DSC et ne peuvent être identifiées que par diffraction des rayons X (Figure 65) [68]. Ce comportement a déjà été observé pour d'autres mésogènes discotiques comme le tetrabenzocyclotetraene [119]. Ce composé commence à se décomposer vers 250°C avant de passer à une phase isotrope mais est néanmoins stable jusqu'à 230°C. Lors du premier chauffage, un large pic endothermique apparaît et est associé à la fonte de la phase cristalline notée Cr0. Les refroidissements et chauffages ultérieurs présentent des enthalpies plus faibles pour cette unique transition autour de 100°C. Au dessus de cette température de fusion, une seule phase cristal liquide est déterminée par DSC. La diffraction des rayons X révèle elle la formation d'une seconde phase cristal liquide au dessus de 149°C.

Les courbes DSC des TrisKs ne montrent aucune nouvelle transition au-delà de la fusion. Les dérivés semblent stables dans la gamme de température utilisée (0-230°) et l'on pourrait rapprocher ce comportement de celui de leurs analogues HATNA. Cependant, les analyses DSC des TrisKs **7f,i** et **8f,i** ne permettent pas à elles seules de conclure quant à leur caractère cristal liquide ou non. Celui-ci, peut être moins attendu pour les dérivés **7f** et **8f** n'arborant que trois chaînes, semble néanmoins tout à fait envisageable dans les cas des dérivés **7i** et **8i**. Ces études ne constituent donc qu'un premier pas vers la caractérisation des propriétés cristal liquide de cette famille de composés. Des expériences complémentaires comme la microscopie à lumière polarisée en premier lieu et la diffraction aux rayons X sont indispensables pour conclure.

Conclusions générales et perspectives

Dans cette première partie, nous avons étudié une nouvelle famille de molécules aromatiques planes de symétrie ternaire, les triazatrinaphthylènes (ou TrisK), pour leurs propriétés d'auto-assemblages bidimensionnels sur des surfaces. La synthèse développée conduit à l'obtention successive de deux dérivés, substitués ou non par des chlores sur les cycles internes du cœur aromatique. Par ailleurs, elle permet une fonctionnalisation aisée de ce cœur et peut donc donner accès à une grande variété de composés.

Les TrisKs synthétisés présentent une grande diversité d'auto-assemblages sur graphite, comme observé par microscopie à effet tunnel. Nous avons pu mettre en évidence la forte influence des chaînes alkyles sur l'organisation de ces molécules. En effet, l'augmentation de leur taille conduit à la transition de réseaux de symétrie hexagonale à des réseaux en rangées plus denses gouvernés par les interactions chaînes-chaînes et chaînes-substrat. Par ailleurs l'augmentation de leur nombre (de trois à six) favorise la formation d'assemblages en rangées de dimères. Enfin, l'introduction de chlores sur le cycle aromatique stabilise les réseaux en nid d'abeille. En renforçant les interactions cœur aromatique-substrat, ces halogènes retardent l'apparition d'organisations en rangées gouvernées par les chaînes alkyles.

Il serait intéressant d'étudier ces dérivés en spectroscopie tunnel afin de mieux caractériser ce système et comprendre ses comportements. D'autre part, les réseaux en nid d'abeille formés pourraient servir de système hôte en accueillant d'autres molécules dans leurs cavités. Enfin, la substitution du cœur par d'autres halogènes permettrait une étude systématique de leur influence.

Des études préliminaires ont été menées afin de caractériser les propriétés électroniques et l'éventuel caractère cristal liquide de certains TrisKs. Si elles n'apportent pas aujourd'hui de données concluantes, elles ouvrent la voie à des études complémentaires qui, espérons-le, établiront les TrisKs comme une nouvelle famille de cristaux liquides discotiques transporteurs de charges.

En attendant des études plus poussées quant à leur aptitude à former des phases cristal liquide, cette classe de composés a d'ores et déjà trouvé une seconde application, biologique celle-ci, en tant qu'agents stabilisant d'ADN G-quadruplexe. L'étude de la stabilisation de cette structure par des petites molécules fait l'objet de la seconde partie de cette thèse.

Bibliographie

1. Lehn, J.M., Supramolecular Chemistry. *Science*, **1993**, 260, 1762-1763.
2. Cram, D.J., The Design of Molecular Hosts, Guests, and Their Complexes (Nobel Lecture). *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1988**, 27, 1009-1020.
3. Pedersen, C.J., The Discovery of Crown Ethers (Nobel Lecture). *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1988**, 27, 1021-1027.
4. Franklin, R.E.; Gosling, R.G., Evidence for 2-Chain Helix in Crystalline Structure of Sodium Deoxyribonucleate. *Nature*, **1953**, 172, 156-157.
5. Franklin, R.E.; Gosling, R.G., Molecular Configuration in Sodium Thymonucleate. *Nature*, **1953**, 171, 740-741.
6. Watson, J.D.; Crick, F.H.C., Molecular Structure of Nucleic Acids - a Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature*, **1953**, 171, 737-738.
7. Watson, J.D.; Crick, F.H.C., Genetical Implications of the Structure of Deoxyribonucleic Acid. *Nature*, **1953**, 171, 964-967.
8. Donohue, J., Hydrogen-Bonded Helical Configurations of Polynucleotides. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1956**, 42, 60-65.
9. Barth, J.V.; Costantini, G.; Kern, K., Engineering atomic and molecular nanostructures at surfaces. *Nature*, **2005**, 437, 671-679.
10. Gates, B.D.; Xu, Q.B.; Stewart, M.; Ryan, D.; Willson, C.G.; Whitesides, G.M., New approaches to nanofabrication: Molding, printing, and other techniques. *Chem. Rev.*, **2005**, 105, 1171-1196.
11. Clark, T.D.; Tien, J.; Duffy, D.C.; Paul, K.E.; Whitesides, G.M., Self-assembly of 10- μ m-sized objects into ordered three-dimensional arrays. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 7677-7682.
12. Niemeyer, C.M., Nanoparticles, proteins, and nucleic acids: Biotechnology meets materials science. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, 40, 4128-4158.
13. Feldkamp, U.; Niemeyer, C.M., Rational design of DNA nanoarchitectures. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, 45, 1856-1876.
14. Seeman, N.C., DNA nanotechnology: Novel DNA constructions. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **1998**, 27, 225-248.
15. Seeman, N.C.; Lukeman, P.S., Nucleic acid nanostructures: bottom-up control of geometry on the nanoscale. *Rep. Prog. Phys.*, **2005**, 68, 237-270.
16. Shih, W.M.; Quispe, J.D.; Joyce, G.F., A 1.7-kilobase single-stranded DNA that folds into a nanoscale octahedron. *Nature*, **2004**, 427, 618-621.
17. Rothemund, P.W.K., Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns. *Nature*, **2006**, 440, 297-302.
18. Kaucher, M.S.; Harrell, W.A.; Davis, J.T., A unimolecular G-quadruplex that functions as a synthetic transmembrane Na⁺ transporter. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 38-39.
19. Davis, J.T.; Spada, G.P., Supramolecular architectures generated by self-assembly of guanosine derivatives. *Chem. Soc. Rev.*, **2007**, 36, 296-313.
20. Mamdouh, W.; Kelly, R.E.A.; Dong, M.D.; Kantorovich, L.N.; Besenbacher, F., Two-dimensional supramolecular nanopatterns formed by the coadsorption of guanine and uracil at the liquid/solid interface. *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, 130, 695-702.
21. Otero, R.; Schock, M.; Molina, L.M.; Laegsgaard, E.; Stensgaard, I.; Hammer, B.; Besenbacher, F., Guanine quartet networks stabilized by cooperative hydrogen bonds. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, 44, 2270-2275.

22. Hunter, C.A., Meldola Lecture - the Role of Aromatic Interactions in Molecular Recognition. *Chem. Soc. Rev.*, **1994**, 23, 101-109.
23. Kool, E.T., Hydrogen bonding, base stacking, and steric effects in DNA replication. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **2001**, 30, 1-22.
24. Meyer, E.A.; Castellano, R.K.; Diederich, F., Interactions with aromatic rings in chemical and biological recognition. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, 42, 1210-1250.
25. Hunter, C.A.; Lawson, K.R.; Perkins, J.; Urch, C.J., Aromatic interactions. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **2001**, 651-669.
26. Hoeben, F.J.M.; Jonkheijm, P.; Meijer, E.W.; Schenning, A., About supramolecular assemblies of pi-conjugated systems. *Chem. Rev.*, **2005**, 105, 1491-1546.
27. Prins, L.J.; Reinhoudt, D.N.; Timmerman, P., Noncovalent synthesis using hydrogen bonding. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, 40, 2383-2426.
28. Desiraju, G.R., C-H center dot center dot center dot O and other weak hydrogen bonds. From crystal engineering to virtual screening. *Chem. Comm.*, **2005**, 2995-3001.
29. Desiraju, G.R., Hydrogen bridges in crystal engineering: Interactions without borders. *Acc. Chem. Res.*, **2002**, 35, 565-573.
30. Tang, C.W., 2-Layer Organic Photovoltaic Cell. *Appl. Phys. Lett.*, **1986**, 48, 183-185.
31. Chen, Z.J.; Stepanenko, V.; Dehm, V.; Prins, P.; Siebbeles, L.D.A.; Seibt, J.; Marquetand, P.; Engel, V.; Wurthner, F., Photoluminescence and conductivity of self-assembled pi-pi stacks of perylene bisimide dyes. *Chem. Eur. J.*, **2007**, 13, 436-449.
32. Fedoroff, O.Y.; Salazar, M.; Han, H.Y.; Chemeris, V.V.; Kerwin, S.M.; Hurley, L.H., NMR-based model of a telomerase-inhibiting compound bound to G-quadruplex DNA. *Biochemistry*, **1998**, 37, 12367-12374.
33. Hannon, M.J., Supramolecular DNA recognition. *Chem. Soc. Rev.*, **2007**, 36, 280-295.
34. Davis, J.T., G-quartets 40 years later: From 5'-GMP to molecular biology and supramolecular chemistry. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, 43, 668-698.
35. Poirier, G.E., Characterization of organosulfur molecular monolayers on Au(111) using scanning tunneling microscopy. *Chem. Rev.*, **1997**, 97, 1117-1127.
36. Ulman, A., Formation and structure of self-assembled monolayers. *Chem. Rev.*, **1996**, 96, 1533-1554.
37. Giancarlo, L.C.; Flynn, G.W., Raising flags: Applications of chemical marker groups to study self-assembly, chirality, and orientation of interfacial films by scanning tunneling microscopy. *Acc. Chem. Res.*, **2000**, 33, 491-501.
38. De Feyter, S.; De Schryver, F.C., Two-dimensional supramolecular self-assembly probed by scanning tunneling microscopy. *Chem. Soc. Rev.*, **2003**, 32, 139-150.
39. Marchenko, A.; Lukyanets, S.; Cousty, J., Adsorption of alkanes on Au(111): Possible origin of STM contrast at the liquid/solid interface. *Phys. Rev. B*, **2002**, 65.
40. Binnig, G.; Rohrer, H., Scanning Tunneling Microscopy. *Helv. Phys. Acta*, **1982**, 55, 726-735.
41. Binnig, G.; Rohrer, H., Scanning Tunneling Microscopy - from Birth to Adolescence. *Rev. Mod. Phys.*, **1987**, 59, 615-625.
42. Binnig, G.; Rohrer, H.; Gerber, C.; Weibel, E., 7x7 Reconstruction on Si(111) Resolved in Real Space. *Phys. Rev. Lett.*, **1983**, 50, 120-123.
43. Tersoff, J.; Hamann, D.R., Theory and Application for the Scanning Tunneling Microscope. *Phys. Rev. Lett.*, **1983**, 50, 1998-2001.
44. Tersoff, J.; Hamann, D.R., Theory of the Scanning Tunneling Microscope. *Phys. Rev. B*, **1985**, 31, 805-813.
45. McGonigal, G.C.; Bernhardt, R.H.; Thomson, D.J., Imaging Alkane Layers at the Liquid Graphite Interface with the Scanning Tunneling Microscope. *Appl. Phys. Lett.*, **1990**, 57, 28-30.

46. De Feyter, S.; De Schryver, F.C., Self-assembly at the liquid/solid interface: STM reveals. *J. Phys. Chem. B*, **2005**, *109*, 4290-4302.
47. Tersoff, J., Anomalous Corrugations in Scanning Tunneling Microscopy - Imaging of Individual States. *Phys. Rev. Lett.*, **1986**, *57*, 440-443.
48. Vorlander, D., The influence of the molecular figure on the crystallised-fluid state. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1907**, *40*, 1970-1972.
49. Chandrasekhar, S.; Sadashiva, B.K.; Suresh, K.A., Liquid-Crystals of Disc-Like Molecules. *Pramana*, **1977**, *9*, 471-480.
50. Schmidt-Mende, L.; Fechtenkötter, A.; Mullen, K.; Moons, E.; Friend, R.H.; MacKenzie, J.D., Self-organized discotic liquid crystals for high-efficiency organic photovoltaics. *Science*, **2001**, *293*, 1119-1122.
51. Nelson, J., Solar energy - Solar cells by self-assembly? *Science*, **2001**, *293*, 1059-1060.
52. Adam, D.; Schuhmacher, P.; Simmerer, J.; Haussling, L.; Siemensmeyer, K.; Eitzbach, K.H.; Ringsdorf, H.; Haarer, D., Fast Photoconduction in the Highly Ordered Columnar Phase of a Discotic Liquid-Crystal. *Nature*, **1994**, *371*, 141-143.
53. Sergeyev, S.; Pisula, W.; Geerts, Y.H., Discotic liquid crystals: A new generation of organic semiconductors. *Chem. Soc. Rev.*, **2007**, *36*, 1902-1929.
54. Laschat, S.; Baro, A.; Steinke, N.; Giesselmann, F.; Hagele, C.; Scalia, G.; Judele, R.; Kapatsina, E.; Sauer, S.; Schreivogel, A.; Tosoni, M., Discotic liquid crystals: From tailor-made synthesis to plastic electronics. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, *46*, 4832-4887.
55. Kumar, S., Self-organization of disc-like molecules: chemical aspects. *Chem. Soc. Rev.*, **2006**, *35*, 83-109.
56. Kumar, S.; Varshney, K.; Chauhan, D., Room-temperature discotic nematic liquid crystals. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **2003**, *396*, 241-250.
57. Attias, A.J.; Cavalli, C.; Donnio, B.; Guillon, D.; Hapiot, P.; Malthete, J., Self-assembled columnar mesophase from a new disclike polar mesogen based on a 3,5-dicyano-2,4,6-tristyrylpyridine core. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **2004**, *415*, 169-177.
58. Chang, J.Y.; Yeon, J.R.; Shin, Y.S.; Han, M.J.; Hong, S.K., Synthesis and characterization of mesogenic disklike benzenetricarboxylates containing diacetylenic groups and their polymerization. *Chem. Mater.*, **2000**, *12*, 1076-1082.
59. Lehmann, M.; Gearba, R.I.; Koch, M.H.J.; Ivanov, D.A., Semiflexible star-shaped mesogens as nonconventional columnar liquid crystals. *Chem. Mater.*, **2004**, *16*, 374-376.
60. Kumar, S., Recent developments in the chemistry of triphenylene-based discotic liquid crystals. *Liq. Cryst.*, **2004**, *31*, 1037-1059.
61. Kumar, S., Triphenylene-based discotic liquid crystal dimers, oligomers and polymers. *Liq. Cryst.*, **2005**, *32*, 1089-1113.
62. Kumar, S.; Wachtel, E.J.; Keinan, E., Hexaalkoxytricycloquinazolines - New Discotic Liquid-Crystals. *J. Org. Chem.*, **1993**, *58*, 3821-3827.
63. Wu, J.S.; Pisula, W.; Mullen, K., Graphenes as potential material for electronics. *Chem. Rev.*, **2007**, *107*, 718-747.
64. Herwig, P.; Kayser, C.W.; Mullen, K.; Spiess, H.W., Columnar mesophases of alkylated hexa-peri-hexabenzocoronenes with remarkably large phase widths. *Adv. Mater.*, **1996**, *8*, 510-513.
65. Pieterse, K.; Lauritsen, A.; Schenning, A.; Vekemans, J.; Meijer, E.W., Symmetrical electron-deficient materials incorporating azaheterocycles. *Chem. Eur. J.*, **2003**, *9*, 5597-5604.

66. Lee, H.; Kim, D.; Lee, H.K.; Qiu, W.F.; Oh, N.K.; Zin, W.C.; Kim, K., Discotic liquid crystalline materials for potential nonlinear optical applications: synthesis and liquid crystalline behavior of 1,3,5-triphenyl-2,4,6-triazine derivatives containing achiral and chiral alkyl chains at the periphery. *Tetrahedron Lett.*, **2004**, *45*, 1019-1022.
67. Gearba, R.I.; Lehmann, M.; Levin, J.; Ivanov, D.A.; Koch, M.H.J.; Barbera, J.; Debije, M.G.; Piris, J.; Geerts, Y.H., Tailoring discotic mesophases: Columnar order enforced with hydrogen bonds. *Adv. Mater.*, **2003**, *15*, 1614-1618.
68. Lehmann, M.; Kestemont, G.; Aspe, R.G.; Buess-Herman, C.; Koch, M.H.J.; Debije, M.G.; Piris, J.; de Haas, M.P.; Warman, J.M.; Watson, M.D.; Lemaure, V.; Cornil, J.; Geerts, Y.H.; Gearba, R.; Ivanov, D.A., High charge-carrier mobility in pi-deficient discotic mesogens: Design and structure-property relationship. *Chem. Eur. J.*, **2005**, *11*, 3349-3362.
69. Kestemont, G.; de Halleux, V.; Lehmann, M.; Ivanov, D.A.; Watson, M.; Geerts, Y.H., Discotic mesogens with potential electron carrier properties. *Chem. Comm.*, **2001**, 2074-2075.
70. Ong, C.W.; Liao, S.C.; Chang, T.H.; Hsu, H.F., In situ synthesis of hexakis(alkoxy)diquinoxalino 2,3-a : 2',3'-c phenazines: Mesogenic phase transition of the electron-deficient discotic compounds. *J. Org. Chem.*, **2004**, *69*, 3181-3185.
71. Ong, C.W.; Liao, S.C.; Chang, T.H.; Hsu, H.F., Rapid synthesis of new discotic liquid crystals based on diquinoxalino 2,3-a : 2',3'-c phenazine containing hexakis(alkoxy) side arms. *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 1477-1480.
72. Lemaure, V.; Da Silva Filho, D.A.; Coropceanu, V.; Lehmann, M.; Geerts, Y.; Piris, J.; Debije, M.G.; Van de Craats, A.M.; Senthilkumar, K.; Siebbeles, L.D.A.; Warman, J.M.; Bredas, J.L.; Cornil, J., Charge transport properties in discotic liquid crystals: A quantum-chemical insight into structure-property relationships. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 3271-3279.
73. Cornil, J.; Lemaure, V.; Calbert, J.P.; Bredas, J.L., Charge transport in discotic liquid crystals: A molecular scale description. *Adv. Mater.*, **2002**, *14*, 726-729.
74. Kaafarani, B.R.; Kondo, T.; Yu, J.S.; Zhang, Q.; Dattilo, D.; Risko, C.; Jones, S.C.; Barlow, S.; Domercq, B.; Amy, F.; Kahn, A.; Bredas, J.L.; Kippelen, B.; Marder, S.R., High charge-carrier mobility in an amorphous hexaazatrinaphthylene derivative. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 16358-16359.
75. Barlow, S.; Zhang, Q.; Kaafarani, B.R.; Risko, C.; Amy, F.; Chan, C.K.; Domercq, B.; Starikova, Z.A.; Antipin, M.Y.; Timofeeva, T.V.; Kippelen, B.; Bredas, J.L.; Kahn, A.; Marder, S.R., Synthesis, ionisation potentials and electron affinities of hexaazatrinaphthylene derivatives. *Chem. Eur. J.*, **2007**, *13*, 3537-3547.
76. Li, C.J.; Zeng, Q.D.; Liu, Y.H.; Wan, L.J.; Wang, C.; Wang, C.R.; Bai, C.L., Evidence of a thermal annealing effect on organic molecular assembly. *Chem. Phys. Chem.*, **2003**, *4*, 857-859.
77. Xu, S.D.; Zeng, Q.D.; Lu, J.; Wang, C.; Wan, L.J.; Bai, C.L., The two-dimensional self-assembled n-alkoxy-substituted stilbenoid compounds and triphenylenes studied by scanning tunneling microscopy. *Surf. Sci.*, **2003**, *538*, L451-L459.
78. Schull, G.; Douillard, L.; Fiorini-Debuisschert, C.; Charra, F.; Mathevet, F.; Kreher, D.; Attias, A.J., Single-molecule dynamics in a self-assembled 2D molecular sieve. *Nano Lett.*, **2006**, *6*, 1360-1363.
79. Ishikawa, Y.; Ohira, A.; Sakata, M.; Hirayama, C.; Kunitake, M., A two-dimensional molecular network structure of trimesic acid prepared by adsorption-induced self-organization. *Chem. Comm.*, **2002**, 2652-2653.
80. Yan, H.J.; Lu, J.; Wan, L.J.; Bai, C.L., STM study of two-dimensional assemblies of tricarboxylic acid derivatives on Au(111). *J. Phys. Chem. B*, **2004**, *108*, 11251-11255.

81. Ruben, M.; Payer, D.; Landa, A.; Comisso, A.; Gattinoni, C.; Lin, N.; Collin, J.P.; Sauvage, J.P.; De Vita, A.; Kern, K., 2D supramolecular assemblies of benzene-1,3,5-triyl-tribenzoic acid: Temperature-induced phase transformations and hierarchical organization with macrocyclic molecules. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 15644-15651.
82. Askadskaya, L.; Boeffel, C.; Rabe, J.P., Molecular-Structure and Dynamics within Self-Assembled Hexakisalkoxy-Triphenylene Monolayers and Alkane Wetting Films. *Ber. Bunsen-Ges. Phys. Chem. Chem. Phys.*, **1993**, *97*, 517-521.
83. Charra, F.; Cousty, J., Surface-induced chirality in a self-assembled monolayer of discotic liquid crystal. *Phys. Rev. Lett.*, **1998**, *80*, 1682-1685.
84. Katsonis, N.; Marchenko, A.; Fichou, D., Substrate-induced pairing in 2,3,6,7,10,11-hexakis-undecalkoxy-triphenylene self-assembled monolayers on Au(111). *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 13682-13683.
85. Katsonis, N.; Marchenko, A.; Fichou, D., Supramolecular rows of discotic liquid crystal on a metal surface. *Synth. Met.*, **2004**, *147*, 73-77.
86. Wu, P.; Zeng, Q.D.; Xu, S.D.; Wang, C.; Yin, S.X.; Bai, C.L., Molecular superlattices induced by alkyl substitutions in self-assembled triphenylene monolayers. *Chem. Phys. Chem.*, **2001**, *2*, 750-754.
87. Yatabe, T.; Harbison, M.A.; Brand, J.D.; Wagner, M.; Mullen, K.; Samori, P.; Rabe, J.P., Extended triphenylenes: synthesis, mesomorphic properties and molecularly resolved scanning tunneling microscopy images of hexakis(dialkoxyphenyl)triphenylenes and dodeca(alkoxy)tris(triphenylenylene)s. *J. Mater. Chem.*, **2000**, *10*, 1519-1525.
88. Li, C.J.; Zeng, Q.D.; Wu, P.; Xu, S.L.; Wang, C.; Qiao, Y.H.; Wan, L.J.; Bai, C.L., Molecular symmetry breaking and chiral expression of discotic liquid crystals in two-dimensional systems. *J. Phys. Chem. B*, **2002**, *106*, 13262-13267.
89. Piot, L.; Marchenko, A.; Wu, J.S.; Mullen, K.; Fichou, D., Structural evolution of hexa-peri-hexabenzocoronene - Adlayers in heteroepitaxy on n-pentacontane template monolayers. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 16245-16250.
90. Feng, X.L.; Wu, J.S.; Ai, M.; Pisula, W.; Zhi, L.J.; Rabe, J.P.; Mullen, K., Triangle-shaped polycyclic aromatic hydrocarbons. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, *46*, 3033-3036.
91. Pinheiro, L.S.; Temperini, M.L.A., STM study of 2,2': 6',2"-terpyridine self-assembly on Au(111). *Surf. Sci.*, **2000**, *464*, 176-182.
92. Wang, D.; Xu, Q.M.; Wan, L.J.; Wang, C.; Bai, C.L., Adlayer structures of pyridine, pyrazine and triazine on Cu(111): An in situ scanning tunneling microscopy study. *Langmuir*, **2002**, *18*, 5133-5138.
93. Constable, E.C.; Guntherodt, H.J.; Housecroft, C.E.; Merz, L.; Neuburger, M.; Schaffner, S.; Tao, Y.Q., An evaluation of the relationship between two- and three-dimensional packing in self-organised monolayers and bulk crystals of amphiphilic 2,2': 6',2"-terpyridines. *New J. Chem.*, **2006**, *30*, 1470-1479.
94. Palma, M.; Levin, J.; Lemaire, V.; Liscio, A.; Palermo, V.; Cornil, J.; Geerts, Y.; Lehmann, M.; Samori, P., Self-organization and nanoscale electronic properties of azatriphenylene-based architectures: A scanning probe microscopy study. *Adv. Mater.*, **2006**, *18*, 3313-3317.
95. Tahara, K.; Furukawa, S.; Uji-I, H.; Uchino, T.; Ichikawa, T.; Zhang, J.; Mamdouh, W.; Sonoda, M.; De Schryver, F.C.; De Feyter, S.; Tobe, Y., Two-dimensional porous molecular networks of dehydrobenzo 12 annulene derivatives via alkyl chain interdigitation. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 16613-16625.

96. Lei, S.B.; Tahara, K.; De Schryver, F.C.; Van der Auweraer, M.; Tobe, Y.; De Feyter, S., One building block, two different supramolecular surface-confined patterns: Concentration in control at the solid-liquid interface. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, *47*, 2964-2968.
97. Tahara, K.; Johnson, C.A.; Fujita, T.; Sonoda, M.; De Schryver, F.C.; De Feyter, S.; Haley, M.M.; Tobe, Y., Synthesis of dehydrobenzo 18 annulene derivatives and formation of self-assembled monolayers: Implications of core size on alkyl chain interdigitation. *Langmuir*, **2007**, *23*, 10190-10197.
98. Saettel, N.; Katsonis, N.; Marchenko, A.; Teulade-Fichou, M.P.; Fichou, D., Triazatrinaphthylene, a three-fold symmetry planar conjugated system with two-dimensional self-assembly properties. *J. Mater. Chem.*, **2005**, *15*, 3175-3180.
99. Lartia, R.; Bertrand, H.; Teulade-Fichou, M.P., Improved synthesis of quinacridine derivatives. *Synlett*, **2006**, 610-614.
100. Tilley, J.W.; Kudless, J.; Kierstead, R.W.; Manchand, P.S., Synthesis of 5-Alkoxyanthranilic Acids. *Org. Prep. Proced. Int.*, **1981**, *13*, 189-196.
101. March, J., Advanced Organic Chemistry. *Wiley Interscience, Third Edition*, 593.
102. Weissman, S.A.; Zewge, D., Recent advances in ether dealkylation. *Tetrahedron*, **2005**, *61*, 7833-7863.
103. Banwell, M.G.; Flynn, B.L.; Stewart, S.G., Selective cleavage of isopropyl aryl ethers by aluminum trichloride. *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 9139-9144.
104. Betts, M.J.; Breault, G.A., PCT WO92/17480 (15.10.1992).
105. Rabe, J.P.; Buchholz, S., Commensurability and Mobility in 2-Dimensional Molecular-Patterns on Graphite. *Science*, **1991**, *253*, 424-427.
106. Bleger, D.; Kreher, D.; Mathevet, F.; Attias, A.J.; Schull, G.; Huard, A.; Douillard, L.; Fiorini-Debuischert, C.; Charra, F., Surface noncovalent bonding for rational design of hierarchical molecular self-assemblies. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, *46*, 7404-7407.
107. Muller, T.; Werblowsky, T.L.; Florio, G.M.; Berne, B.J.; Flynn, G.W., Ultra-high vacuum scanning tunneling microscopy and theoretical studies of 1-halohehexane monolayers on graphite. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2005**, *102*, 5315-5322.
108. Koudia, M.; Abel, M.; Maurel, C.; Blik, A.; Catalin, D.; Mossoyan, M.; Mossoyan, J.C.; Porte, L., Influence of chlorine substitution on the self-assembly of zinc phthalocyanine. *J. Phys. Chem. B*, **2006**, *110*, 10058-10062.
109. Abdel-Mottaleb, M.M.S.; Gotz, G.; Kilickiran, P.; Bauerle, P.; Mena-Osteritz, E., Influence of halogen substituents on the self-assembly of oligothiophenes - A combined STM and theoretical approach. *Langmuir*, **2006**, *22*, 1443-1448.
110. M. J. Frisch, G.W.T., H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, ; M. A. Robb, J.R.C., J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, ; K. N. Kudin, J.C.B., J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, ; V. Barone, B.M., M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, ; G. A. Petersson, H.N., M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, ; R. Fukuda, J.H., M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, ; H. Nakai, M.K., X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, ; C. Adamo, J.J., R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, ; A. J. Austin, R.C., C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, ; K. Morokuma, G.A.V., P. Salvador, J. J. Dannenberg, ; V. G. Zakrzewski, S.D., A. D. Daniels, M. C. Strain, ; O. Farkas, D.K.M., A. D. Rabuck, K. Raghavachari, ; J. B. Foresman, J.V.O., Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, ; J. Cioslowski, B.B.S., G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, ; I. Komaromi, R.L.M., D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, ; C. Y. Peng, A.N., M. Challacombe, P. M. W. Gill, ; B. Johnson, W.C., M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople, Gaussian 03, Revision B.03, Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 2003.
111. Metrangolo, P.; Resnati, G., Halogen bonding: A paradigm in supramolecular chemistry. *Chem. Eur. J.*, **2001**, *7*, 2511-2519.

112. Schull, G., Dynamique d'auto-assemblages moléculaires bi-dimensionnels. *Thèse, ENS cachan*, **2006**.
113. Katsonis, N.; Lacaze, E.; Feringa, B.L., Molecular chirality at fluid/solid interfaces: expression of asymmetry in self-organised monolayers. *J. Mater. Chem.*, **2008**, *18*, 2065-2073.
114. Bock, H.; Babeau, A.; Seguy, I.; Jolinet, P.; Destruel, P., Electron-deficient columnar plastic crystals. *Chem. Phys. Chem.*, **2002**, *3*, 532-535.
115. Seguy, I.; Jolinet, P.; Destruel, P.; Mamy, R.; Allouchi, H.; Courseille, C.; Cotrait, M.; Bock, H., Crystal and electronic structure of a fluorescent columnar liquid crystalline electron transport material. *Chem. Phys. Chem.*, **2001**, *2*, 448-452.
116. Bohme, T.; Simpson, C.D.; Mullen, K.; Rabe, J.P., Current-voltage characteristics of a homologous series of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Chem. Eur. J.*, **2007**, *13*, 7349-7357.
117. Pieterse, K.; van Hal, P.A.; Kleppinger, R.; Vekemans, J.; Janssen, R.A.J.; Meijer, E.W., An electron-deficient discotic liquid-crystalline material. *Chem. Mater.*, **2001**, *13*, 2675-2679.
118. Lehmann, M.; Lemaire, V.; Cornil, J.; Bredas, J.L.; Goddard, S.; Grizzi, I.; Geerts, Y., Hexaazatriisothianaphthenes: new electron-transport mesogens? *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 3283-3291.
119. Spielberg, N.; Sarkar, M.; Luz, Z.; Poupko, R.; Billard, J.; Zimmermann, H., The Discotic Mesophases of Octaalkoxyorthocyclophanes and Octaalkoxyorthocyclophanes. *Liq. Cryst.*, **1993**, *15*, 311-330.

PARTIE 2

Synthèse et étude de nouveaux ligands d'ADN G-Quadruplexe

Introduction

La deuxième partie de ce travail de thèse est consacrée à la synthèse et l'étude de nouveaux ligands d'ADN G-quadruplexe. Dans cette introduction, nous présenterons l'ADN G-quadruplexe, sa structure et son rôle biologique avant d'exposer les ligands existants pour cette structure. Cette seconde partie s'articulera ensuite autour de trois axes :

- 1- l'étude de l'interaction avec l'ADN quadruplexe de molécules aromatiques de symétrie ternaire, dérivés de la famille des TrisKs présentée précédemment, constituera le premier chapitre de cette partie,
- 2- les résultats obtenus avec des complexes métalliques de terpyridine seront présentés au Chapitre 2, mettant en évidence le rôle critique de la géométrie du centre métallique dans l'interaction de ces molécules avec le quadruplexe.
- 3- Enfin nous avons développé des complexes de platine permettant de piéger les G-quadruplexes de manière irréversible ; l'étude de leur mode d'interaction avec cette structure d'ADN sera présentée au Chapitre 3.

I. ADN G-quadruplexe, structure et rôle biologique.

I.1. Caractéristiques des structures G-quadruplexes

L'unité constitutive élémentaire de l'ADN quadruplexe est le quartet ou tétrade de guanines (G-quartet). Celui-ci est formé par l'assemblage de quatre guanines coplanaires, reliées par un réseau de huit liaisons hydrogène sur leurs côtés Watson-Crick (N(1)H et N(2)H) et Hoogsteen (N(7) et O(6)). Si des structures secondaires de guanines monophosphates ont été mises en évidence dès le début des années 1960 [1], la formation de la structure G-quadruplexe est démontrée par le groupe de Davies en 1975 [2, 3]. Celle-ci est constituée de l'empilement de G-quartets (deux au minimum) formant une hélice droite à quatre brins [4]. Cette structure est par ailleurs stabilisée par des cations désolvatés, octacoordinés par les groupes carbonyles de deux quartets successifs [5]. La stabilité de la structure formée dépend de la nature du cation selon l'ordre suivant : $K^+ > Rb^+ > Na^+ > Li^+ = Cs^+$ et $Sr^{2+} > Ba^{2+} > Ca^{2+} > Mg^{2+}$ [6]. Celui-ci est assez bien corrélé avec le rayon ionique des cations mais le coût en énergie nécessaire à leur désolvatation est également un facteur important.

Une structure G-quadruplexe peut être formée à partir de fragments d'ADN ou d'ARN présentant au moins deux guanines successives. On distingue plusieurs types de structures quadruplexes selon le nombre de brins d'acides nucléiques les constituant (et donc selon le nombre de guanines consécutives qu'ils comportent et l'enchaînement de ces répétitions de guanines) : intermoléculaires (tétra- ou bimoléculaires) et intramoléculaires (Figure 66, [7]).

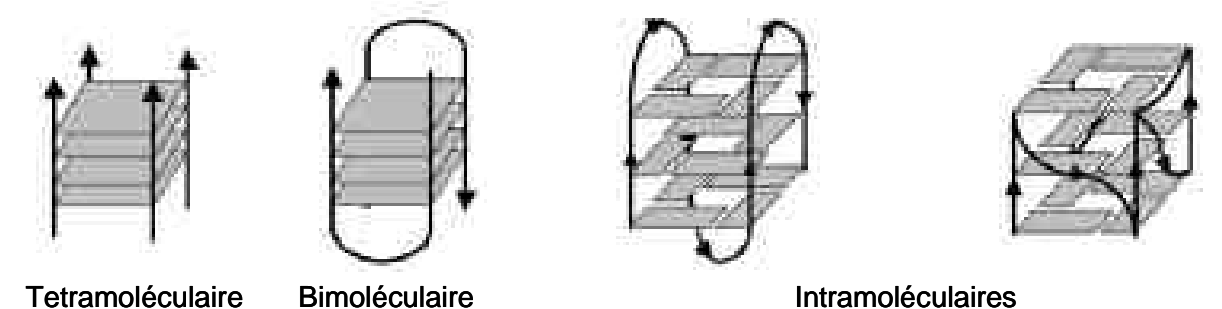


Figure 66. Structures G-quadruplexe et molécularité : G-quadruplexes tétramoléculaire, bimoléculaire et intramoléculaires, d'après [8].

Les structures bimoléculaires et intramoléculaires sont caractérisées par la présence de boucles (formées par les nucléotides situés entre des blocs de guanines successives) pouvant présenter plusieurs conformations : latérales, diagonales, en forme de V ('V-shaped') ou 'double-chain reversal' (Figure 67).

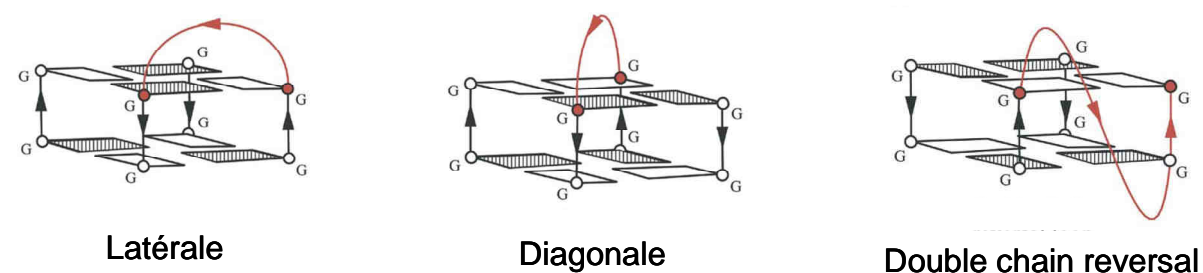


Figure 67. Boucles de G-quadruplexes, d'après [9].

Enfin les guanines formant les quartets peuvent présenter une conformation glycosidique *syn* ou *anti* provenant d'un changement d'orientation dans l'enchaînement du sucre avec la base. La présence de guanines de conformations *syn* et/ou *anti* dans un quartet induit une variation dans la taille des sillons (Figure 68).

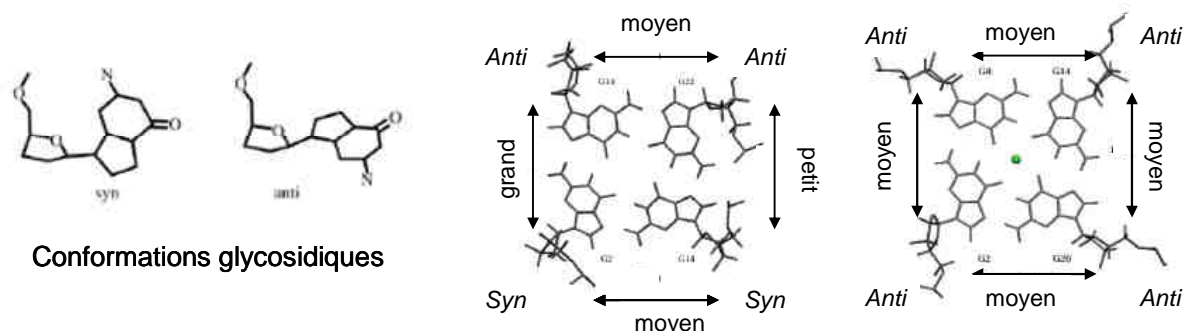


Figure 68. Conformations glycosidiques des guanines et conséquences sur la taille des sillons, d'après [10].

Les structures G-quadruplexes sont donc caractérisées par un important polymorphisme dû à la molécularité, aux orientations des brins et aux conformations possibles des boucles. Les différentes structures G-quadruplexes pouvant être formées par l'ADN télomérique qui nous intéresse particulièrement dans le cadre de ce travail de thèse seront présentées §II.1.

I.2. Rôles biologiques.

Les structures G-quadruplexes ne se forment qu'en présence de cations, le potassium induisant la plus grande stabilité. Les concentrations ioniques typiques rencontrées dans les cellules étant 100mM K^+ , 10mM Na^+ , 0.5mM Mg^{2+} , 0.1 μ M Ca^{2+} et 5-15mM Cl^- à pH 7.2, la formation de ces structures semble donc tout à fait envisageable en conditions physiologiques. Des études de dénaturation thermique sur la structure G-quadruplexe intramoléculaire formée par la séquence $AG_3(T_2AG_3)_3$ dérivée de la séquence télomérique humaine dans des conditions proches des conditions physiologiques (100mM K^+ , 10mM Na^+ , pH 7.0) fournissent des données thermodynamiques de formation de cette structure : $\Delta G^\circ = -4.6$ kcal/mol et $K = 1750$ à 37°C (et température de demi-dissociation de 63°) [11]. Elles montrent ainsi que des séquences riches en guanines sont fortement susceptibles de se structurer spontanément en G-quadruplexe dans des conditions physiologiques. Il faut toutefois garder à l'esprit que des régions simples brins (ou l'ouverture d'un ADN duplexe) sont nécessaires à la formation d'une structure G-quadruplexe.

Malgré la forte probabilité de l'existence de ces structures *in vivo*, les preuves tendant à la démontrer sont encore essentiellement indirectes. De nombreuses études suggèrent que l'ADN quadruplexe pourrait avoir un rôle dans différents processus biologiques tels que la réplication, la division cellulaire ou encore la régulation de l'expression de certains gènes [12].

Des études bioinformatiques sur le génome ont mis en évidence l'existence de 376000 séquences susceptibles de former des structures G-quadruplexes intramoléculaires [13-15]. Ces séquences sont présentes dans certaines régions clés du génome pour lesquelles la formation de G-quadruplexes intra- ou inter-moléculaires a été proposée ou démontrée : outre les télomères que nous développerons au paragraphe suivant, on peut citer les régions de commutation des chaînes lourdes des immunoglobulines [16, 17], les mini-satellites, l'ADN ribosomique [18], les promoteurs de gènes [19] (facteur 1 α de l'hypoxie HIF1- α et VEGF) et d'oncogènes (bcl2, kras, c-kit, ou encore c-myc). Les structures G-quadruplexes déterminées par RMN de certains de ces promoteurs sont représentées Figure 69.

De façon intéressante, la distribution de ces séquences susceptibles de se structurer en G-quadruplexe n'est pas aléatoire et est corrélée avec la fonction du gène [20]. Il a ainsi été démontré que les gènes assurant la stabilité chromosomique (dits suppresseurs de tumeurs) ont des régions promotrices pauvres en séquences capables de former des G-quadruplexes, alors que celles qui accroissent l'instabilité chromosomique (les oncogènes) en sont riches. Ceci constitue un argument fort en faveur du rôle essentiel des quadruplexes dans la modulation de l'expression génétique.

Dans le cadre de la formation de structures G-quadruplexes, l'oncogène le plus étudié est le promoteur de *c-myc*, oncogène codant pour une protéine régulatrice de la prolifération et de la croissance cellulaire. Des ligands capables d'interagir spécifiquement avec les G-quadruplexes intramoléculaires formés par cette séquence ont été développés [21]. Ceci constitue une nouvelle stratégie anti-cancéreuse visant la répression de la transcription de l'oncogène *c-myc* par la formation et/ou la stabilisation du G-quadruplexe dans le promoteur. Un de ces ligands, la quarfloxin [22], est ainsi à ce jour en phase II de développement clinique.

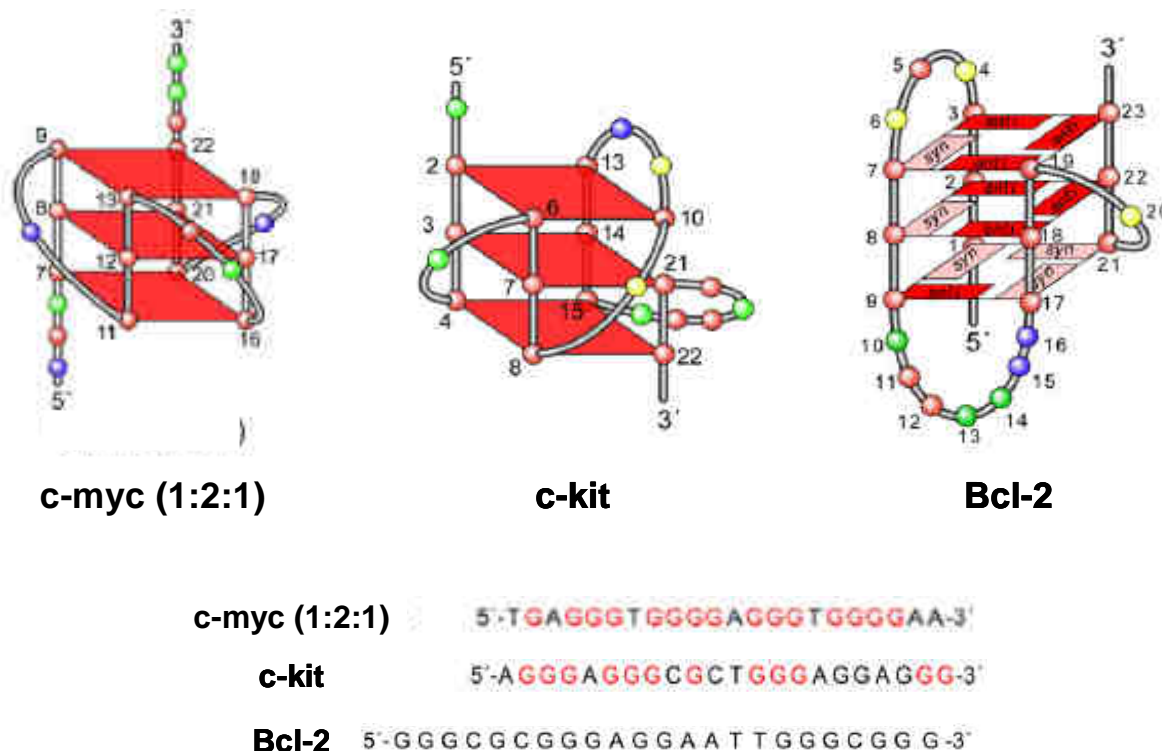


Figure 69. Structures G-quadruplexes intramoléculaires et séquences de certains promoteurs en présence d'ions K^+ (déterminées par RMN : c-myc [23, 24], c-kit [25], bcl2 [26]) (d'après [19]). Les guanines de conformation syn sont en rose, celles de conformation anti en rouge.

L'argument le plus probant quant à la formation de ces structures *in vivo* est certainement l'identification de protéines de plus en plus nombreuses (et chez différentes espèces) interagissant spécifiquement avec les G-quadruplexes *in vitro* [27]. Parmi celles-ci, on peut citer :

- les protéines reconnaissant spécifiquement les quadruplexes
- les protéines induisant et régulant la structure G-quadruplexe ('Telomere Binding Proteins' TEBP des ciliés *Oxytricha nova*, *Stylonichia lemnae* et *Saccharomices cerevisiae* [28, 29] par exemple).
- les protéines capables de défaire ou de déstabiliser cette structure : on distingue les résolvases (Pot1 chez l'homme, voir §II.2 [30]) et les hélicases. Ainsi les hélicases humaines BLM et WRN (déficientes dans les syndromes de Bloom et Werner) sont capables de résoudre des G-quadruplexes tétramoléculaires [31-34].
- les protéines capables de couper ces structures, les nucléases parmi lesquelles la protéine GQN1 spécifique de l'ADN G-quadruplexe [35].

Bien que moins nombreuses, des preuves directes de l'existence des G-quadruplexes *in vivo* ont également été obtenues. Ainsi, des anticorps anti-quadruplexe (Sty49) ont été générés au sein du cilié *Stylonichia lemnae* et ont conduit à une immuno-réponse forte au sein de ses

macronoyaux [36]. D'autre part, dans des cellules humaines, un ligand radiomarqué au tritium (^3H -360A, voir §III.1.3) hautement spécifique des G-quadruplexes se localise aux extrémités chromosomiques, les télomères, où la formation de ces structures est probable [37].

Enfin, de courtes séquences d'oligonucléotides se structurant en G-quadruplexe *in vitro* peuvent avoir des effets cellulaires. C'est le cas de certains aptamères (courtes séquences d'acides nucléiques se liant à des protéines par exemple) comme celui de la thrombine présentant des propriétés anti-coagulantes [38, 39].

II. Télomères et G-quadruplexes télomériques

Les télomères, complexes nucléoprotéiques situés aux extrémités des chromosomes chez les eucaryotes, ont un rôle de protection contre les événements provoquant une instabilité génétique, entraînant des dégradations, des recombinaisons, ou encore des fusions inter-chromosomiques [40]. Ils protègent également le matériel génétique des cassures double brin et des pertes d'information au cours des divisions cellulaires. Les télomères sont liés au vieillissement cellulaire et au potentiel limité de réplication des cellules. En effet, dans les cellules somatiques humaines, les télomères sont raccourcis à chaque division cellulaire, en raison de l'incapacité de l'ADN polymérase à les répliquer entièrement. Ce phénomène est connu sous le nom de « end replication problem ». Lorsqu'une limite d'érosion est atteinte (appelée limite de Hayflick [41, 42]), la cellule n'est plus capable de se diviser et rentre en sénescence. Il existe cependant des mécanismes de maintenance de la longueur des télomères. L'un d'eux est assuré par une enzyme spécifique, la télomérase. La structure de l'ADN télomérique, substrat de cette enzyme, a une grande influence sur la processivité de celle-ci. C'est pourquoi nous nous attacherons tout d'abord à décrire les différentes structures possibles de l'ADN télomérique, puis celle plus globale du télomère (*i.e.* de l'ADN télomérique associé aux différentes protéines qui lui sont spécifiques). Nous étudierons enfin l'influence de ces différents paramètres sur le fonctionnement de la télomérase.

II.1. ADN télomériques : séquences et structures G-quadruplexes

Les télomères sont composés de répétitions d'une séquence d'ADN riche en guanines largement conservée au cours de l'évolution et au motif général $\text{T/A}_{(1-4)}\text{G}_{(1-8)}$ [43]. Ainsi chez tous les vertébrés, la séquence répétée est T_2AG_3 .

Leur taille, en revanche, varie entre les espèces (de 5 à 15kb chez l'homme) et d'un chromosome à l'autre au sein d'une même cellule [44]. Si la majeure partie de l'ADN télomérique est double brin, l'extrémité 3' se présente sous la forme d'un simple brin sortant riche en guanines connu sous le nom de G-overhang. La longueur de cette extrémité 3' varie en fonction des espèces de 12 à plusieurs centaines de bases (100 à 200 en moyenne pour l'homme). Cette extrémité simple brin joue un rôle essentiel dans la structure des télomères et dans leur rôle de protection des chromosomes ; elle sert également d'amorce pour les enzymes de réplication.

Simple brin riche en guanines, l'extrémité télomérique semble particulièrement adaptée pour la formation de structures G-quadruplexes. Nous ne nous intéresserons ici qu'aux structures quadruplexes intramoléculaires formées par l'ADN télomérique humain. Une première structure G-quadruplexe pour cette séquence a été résolue en présence d'ions sodium par RMN par l'équipe de D. Patel. Cette structure, dite antiparallèle en raison de l'alternance régulière de la polarité des brins, est caractérisée par la présence d'une boucle diagonale et de deux boucles latérales (Figure 70, [45, 46]). En présence de potassium, ce qui est plus proche des conditions physiologiques, les G-quadruplexes formés par la séquence télomérique présentent un fort polymorphisme. Une structure a été résolue par diffraction des rayons X par le groupe de S. Neidle; elle présente des brins parallèles et des boucles de type 'double chain reversal' (Figure 70, [47]). La pertinence de cette structure a cependant été beaucoup discutée ; les conditions de cristallisation pourraient en effet influencer la formation d'un tel repliement. Enfin, deux structures dites 'hybrides' parallèles/antiparallèles formées par la séquence télomérique modifiée à ses extrémités ont été déterminées par RMN par les groupes de A. T. Phan et de D. Yang (Figure 70, [48-51]). Elles sont caractérisées par la présence d'une boucle de type 'double chain reversal' et de deux boucles parallèles. Notons que ces formes hybrides ont aussi été récemment déterminées par RMN sur la séquence télomérique native [50]. Le polymorphisme est donc une caractéristique inhérente à la séquence télomérique humaine.

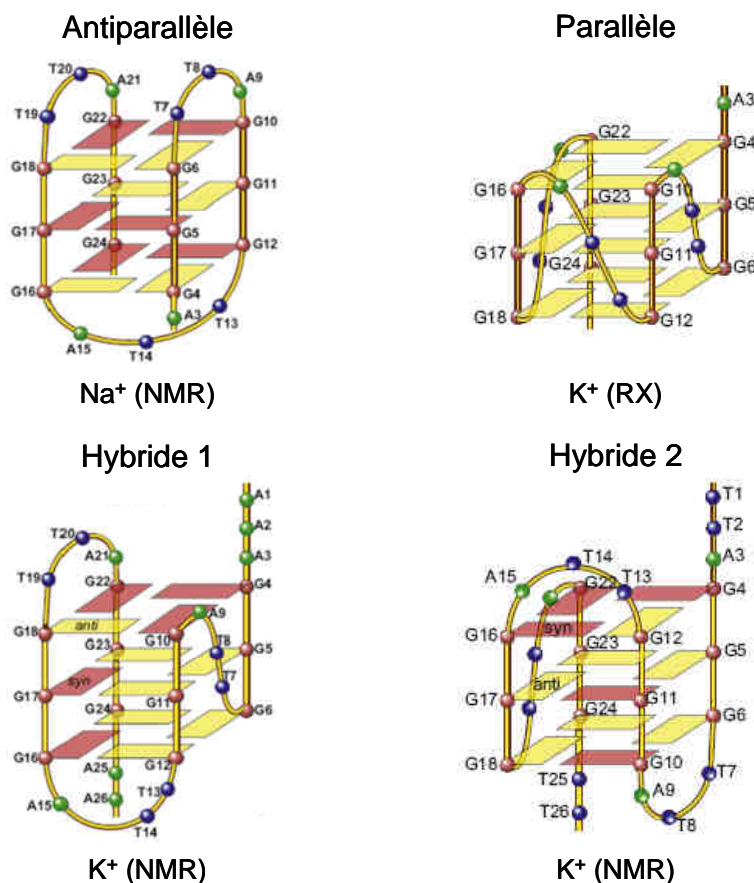


Figure 70. Structures G-quadruplexes intramoléculaires pour la séquence télomérique humaine : forme antiparallèle (5'-AG₃(T₂AG₃)₃-3', résolue par RMN en conditions Na⁺, [45]), forme parallèle (5'-AG₃(T₂AG₃)₃-3', résolue par cristallographie en conditions K⁺, [47]), forme 'hybride 1' (5'-A₃G₃(T₂AG₃)₃A₂-3', résolue par RMN en conditions K⁺, [48, 52]) et forme 'hybride 2' (5'-T₂AG₃(T₂AG₃)₃T₂-3', résolue par RMN en conditions K⁺, [50]) (d'après [53]). Les guanines de conformation syn sont en rose, celles de conformation anti en jaune.

Des études menées par le groupe de J. D. Griffith ont démontré que les extrémités chromosomiques s'organisent dans une configuration non-linéaire appelée T-loop. Dans ce modèle, l'extrémité 3' simple brin du télomère forme une large boucle par l'invasion de la région double brin en amont (Figure 71A(bas), [54]). La formation de cette T-loop participerait au rôle de protection du télomère en masquant son extrémité 3' simple brin par association avec les protéines télomériques que nous allons présenter dans le paragraphe suivant. Notons que la formation de G-quadruplexe au niveau de l'ADN télomérique pourrait perturber cette T-loop et par la même altérer l'intégrité des télomères.

Par ailleurs, des arrangements alternatifs des extrémités télomériques faisant intervenir des structures G-quadruplexes ont été envisagés. Ainsi, la formation d'un quadruplexe intramoléculaire pourrait protéger le G-overhang (Figure 71C gauche). La formation de structures hybrides pourrait par ailleurs permettre l'empilement de G-quadruplexes tout au

long de l'extrémité simple brin entraînant une compaction du G-overhang (Figure 71 droite, [55]).

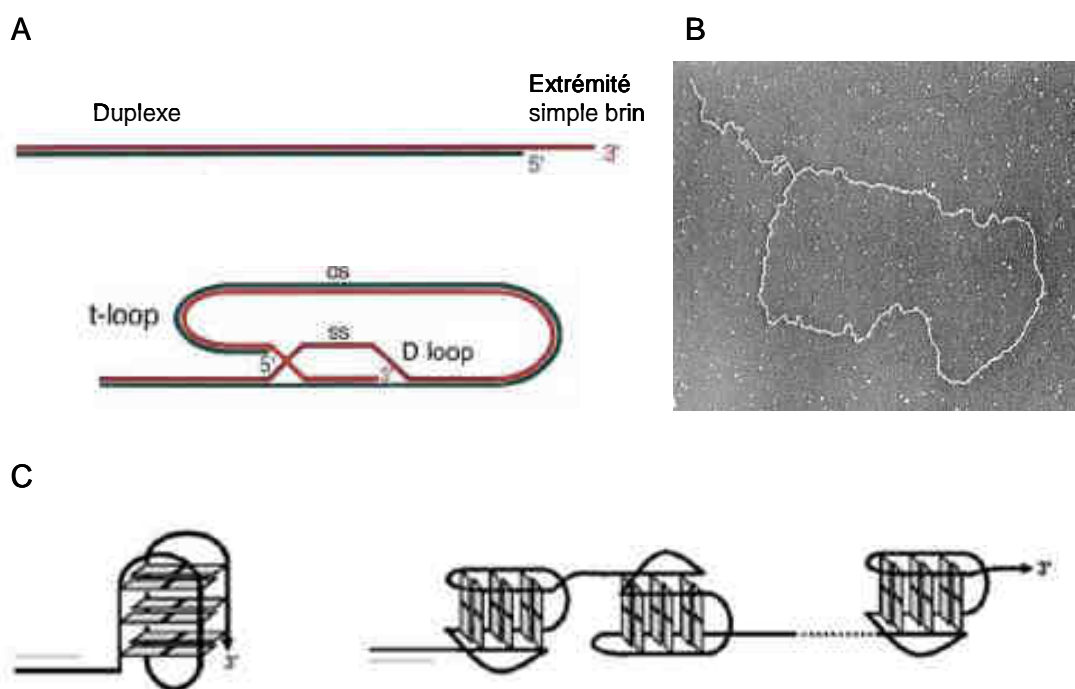


Figure 71. Télomères. **A. (haut)** ADN télomérique humain (duplexe 2-15kb, simple brin -GGGTTA-100-200nt) **(bas)** Modèle de la T-loop, **B.** T-loop formée par l'ADN télomérique (de cellules HeLa) observée par microscopie électronique [54], **C.** Conformations alternatives envisagées basées sur des structures G-quadruplexes.

II.2. Protéines télomériques, complexe 'shelterin' et télomérase

II.2.1. Complexe 'shelterin'

Un ensemble de six protéines (au moins) spécifiques des télomères s'associe à la séquence télomérique et protège les extrémités des chromosomes. Ce complexe est appelé 'shelterin' [56]. Parmi ces six protéines, trois d'entre elles se lient directement aux répétitions télomériques : TRF1 et TRF2 se lient à la partie double brin et POT1 fixant préférentiellement l'extrémité simple brin de séquence 5'-(T)TAGGGTTAG-3'. Celles-ci sont reliées entre elles par trois protéines supplémentaires : TIN2, TPP1 et RAP1 (Figure 72A), assurant une connexion entre le double brin télomérique et l'extrémité 3' sortante. L'ensemble de ce complexe joue un rôle dans la maintenance des télomères et permet de les différencier d'un site de dommage de l'ADN.

Le complexe shelterin affecte la structure des télomères, modulant ainsi la régulation de leur protection (et de leur longueur). En effet, il est impliqué dans la formation de la structure T-loop (Figure 72B). Il a été montré que TRF2 est capable de former la T-loop *in vitro* [57]. Le rôle de ces protéines dans la formation de cette boucle n'a cependant pas été testé *in vivo*. Dans cet état fermé, l'extrémité 3' est protégée des événements de dégradation (*i.e.* n'est pas reconnu par la machinerie cellulaire comme un brin d'ADN dégradé) ou d'élongation par la télomérase.

Les télomères peuvent également présenter un état ouvert (durant les étapes de réplication ou d'élongation) (Figure 72B). Dans cette configuration, les protéines du complexe shelterin seraient localisées sur l'ensemble du télomère et pas uniquement à la jonction entre la région double brin et l'extrémité 3' [56]. POT1 semble jouer un rôle essentiel dans la régulation de la longueur des télomères, cette protéine permettrait soit l'activation soit l'inhibition de la télomérase selon sa position sur le simple brin et donc selon l'accessibilité de l'extrémité 3' [58].

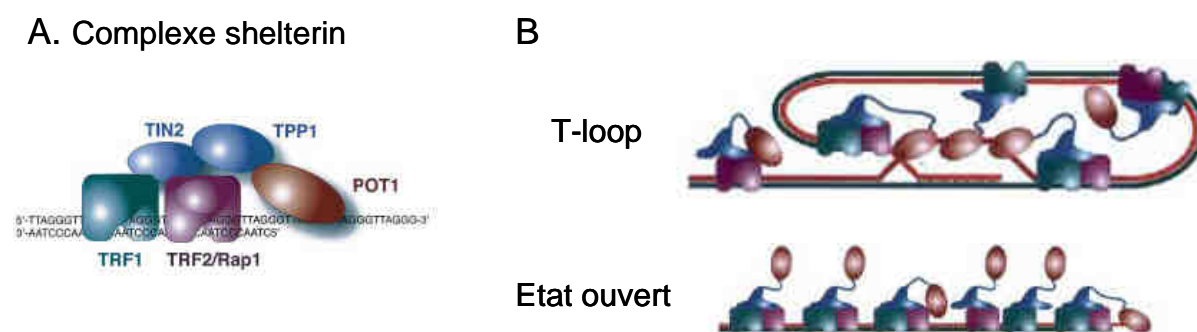


Figure 72. A. Complexes shelterin : POT1 se lie au simple brin tandis que TRF1 et TRF2 sont fixées sur le double brin ; elles sont reliées par l'intermédiaire de TIN2 et TPP1. B. Télomère replié en T-loop ou état ouvert (et complexes shelterin associés) [56]

L'altération de certaines protéines du complexe shelterin induit des dysfonctions des télomères qui activent les voies de réponse aux dommages de l'ADN. Ainsi, l'inhibition de POT1 ou de TRF2 entraîne le recrutement de facteurs de dommages à l'ADN [59], un raccourcissement de l'extrémité 3', et la formation de fusions chromosomiques [60].

Outre les six entités du complexe shelterin spécifiques des télomères, il existe d'autres protéines interagissant avec les télomères. On peut ainsi citer des protéines régulant l'activité de TRF1 et TRF2 (tankyrases) ou les hélicases (BLM ou WRN évoquées précédemment) qui interagissent avec TRF2 et qui pourraient permettre la résolution de la structure T-loop [56].

II.2.2. Télomérase

La télomérase est une enzyme qui permet de maintenir la longueur des télomères, luttant ainsi contre leur érosion naturelle. Initialement identifiée chez un cilié [61], elle a ensuite été mise en évidence dans de nombreux organismes [62]. La télomérase est une transcriptase inverse, elle synthétise et ajoute des répétitions télomériques (5'-GGTTAG-3' chez l'homme) à l'extrémité 3' simple brin grâce à une matrice ARN qui est rétro-transcrite [63]. Elle est constituée d'une sous-unité catalytique hTERT (pour human Telomerase Reverse Transcriptase) et d'un ARN hTR (pour human Telomerase RNA, comprenant une matrice de séquence 5'-CUAACCCUAAC-3').

La télomérase présente une activité significative dans la majorité des cellules cancéreuses (85-90%) alors qu'elle est faiblement détectable dans les cellules somatiques normales (à l'exception de certaines cellules souches comme celles impliquées dans le renouvellement des tissus) [64]. De plus, contrairement aux cellules cancéreuses dans lesquelles elle rallonge les télomères à chaque cycle cellulaire, elle ne ferait que participer au maintien de leur intégrité dans les cellules somatiques. Cette enzyme constitue donc un marqueur quasi-universel du cancer chez l'homme et représente une cible thérapeutique très intéressante. De plus, la présence d'une activité télomérase dans de telles cellules confirme le rôle qu'a cette enzyme dans le maintien de leur pouvoir de réplication.

Dans les 10-15% des cellules cancéreuses ne présentant pas d'activité télomérase, la maintenance de la longueur des télomères est assurée par un autre mécanisme appelé ALT ('alternative lengthening of telomeres') [65]. Celui-ci n'est pas encore élucidé mais passerait par des recombinaisons entre télomères [66].

La télomérase fonctionne de manière processive, c'est-à-dire par étapes successives d'élongations et de translocations. Son activité et l'accessibilité à son substrat doivent être régulées [67]. En effet, la longueur des télomères (dans les cellules présentant une forte activité télomérase) est maintenue constante mais n'augmente pas. Ce phénomène est appelé homéostasie des télomères. Les mécanismes de cette régulation sont encore méconnus mais les différentes configurations des télomères (T-loop ou conformation ouverte) présentées précédemment pourraient y participer.

II.2.3. Inhibition de la télomérase

Le potentiel de réplication illimité est une des caractéristiques des cellules tumorales. Sachant que la télomérase doit participer activement à ce processus, elle constitue une cible intéressante en stratégie anti-cancéreuse. De nombreuses stratégies d'inhibition directe de cette enzyme ont été développées [68-71]. Celles-ci ciblent les composantes de l'enzyme hTERT et/ou hTR, et utilisent pour cela des inhibiteurs catalytiques ou des antisens par exemple. Si l'inhibition directe de la télomérase peut entraîner un arrêt de croissance des cellules tumorales et constitue donc un moyen de rendre ces cellules sénescents, elle présente également quelques restrictions. Certaines cellules normales présentant également une activité télomérase, ces stratégies peuvent donc poser des problèmes de sélectivité. D'autre part, elles visent un raccourcissement progressif des télomères ; leur efficacité dépendra donc de la taille initiale de ceux-ci et peut être retardée.

Une voie d'inhibition indirecte de la télomérase suscite actuellement un vif intérêt et est à l'origine de la seconde partie de ce travail de thèse. Elle consiste cette fois-ci à modifier la conformation du substrat de l'enzyme en stabilisant les structures G-quadruplexes au niveau des télomères par des ligands synthétiques. Cette stabilisation a en effet démontré une capacité à inhiber la télomérase *in vitro* [72].

III. Ligands de G-quadruplexe

Nous présentons ici les nombreuses familles de composés étudiées pour leur aptitude à stabiliser et à interagir spécifiquement avec les G-quadruplexes. Leur sélectivité vis-à-vis des autres structures d'ADN est une préoccupation essentielle. La formation de G-quadruplexes *in vivo* reste en effet certainement un événement marginal par rapport à la forme canonique de l'ADN en double hélice. Le mode d'action supposé de ces ligands sera ensuite énoncé. Ce paragraphe sera enfin l'occasion de présenter les différentes techniques utilisées pour caractériser l'interaction de ligands avec les structures G-quadruplexes.

III.1. Familles de ligands et modes d'interaction

La structure des G-quadruplexes et en particulier la large surface aromatique que constitue un G-quartet, est particulièrement adaptée à la reconnaissance par des molécules aromatiques

planes de surface étendue. Ainsi dans la plupart des cas, la stabilisation des G-quadruplexes provient des interactions de π -stacking entre le ligand et un des quartets externes auxquelles s'ajoutent des interactions électrostatiques entre la molécule chargée positivement et le squelette anionique du quadruplexe (Figure 73).

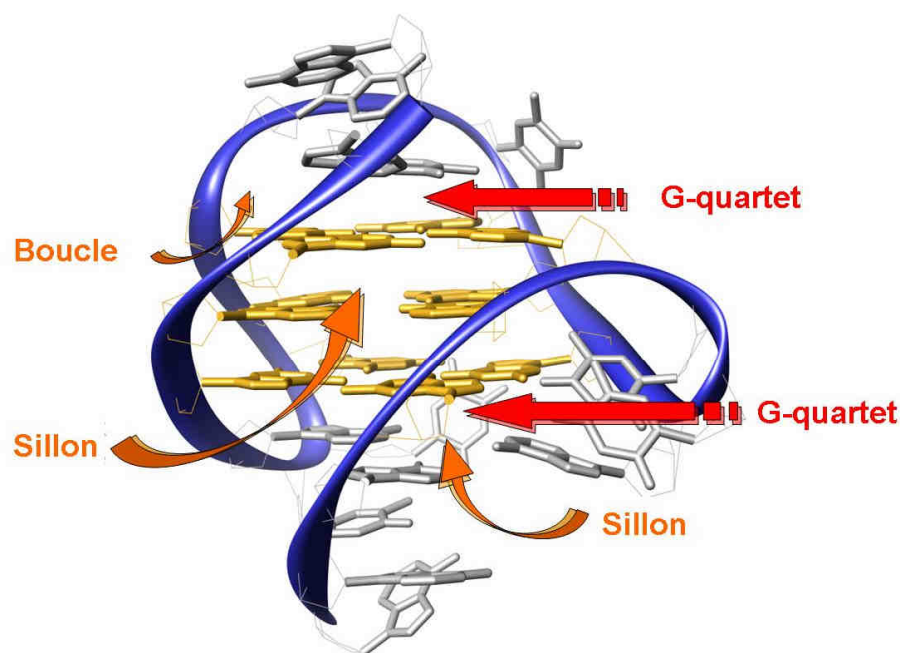


Figure 73. Sites d'interaction des ligands avec les structures G-quadruplexes.

Il s'agit alors de trouver le bon équilibre entre la surface aromatique (et sa forme) et le nombre de charges du ligand afin d'obtenir une forte affinité pour le G-quadruplexe et une bonne sélectivité vis-à-vis des autres formes d'ADN. La présence ou la formation de structures G-quadruplexes ne devant être qu'un phénomène d'occurrence minime par rapport à la forme canonique double brin, la sélectivité est un critère essentiel dans le développement de ligands de G-quadruplexes. Deux revues récentes détaillent les nombreux ligands développés [73, 74]. Nous ne présentons ici que les composés les plus étudiés ou d'un intérêt particulier dans le cadre de cette thèse. Les différentes origines de la nature cationique des ligands (N-méthylation, protonation de chaînes pendantes, complexation d'un centre métallique) nous serviront de base pour classer les diverses familles de composés étudiées [74].

III.1.1. Ligands anioniques ou neutres

Cette première catégorie est la plus restreinte mais elle comprend la **télomestatine**, actuellement l'un des meilleurs ligands de G-quadruplexe ($\Delta T_{1/2}=24^{\circ}\text{C}$ - cette valeur est fournie par le test FRET, méthode décrite au §III.3.2, et permet d'évaluer et de comparer l'affinité des ligands pour les G-quadruplexes - et facteur de sélectivité de 70) et le meilleur inhibiteur de la télomérase *in vitro* (test TRAP¹, $\text{IC}_{50}=5\text{nM}$) [75, 76]. C'est un macrocycle naturel neutre à huit cycles isolé de *Streptomyces annulatus* par le groupe de K. Shin-ya. La capacité de ce ligand à induire et à stabiliser les G-quadruplexes et à inhiber la prolifération de cellules télomérase-positives a été démontrée. Sa synthèse totale, décrite récemment, s'avère longue et difficile [77]. Des dérivés de la télomestatine ont donc été développés, comme le **bistrioxazole acétate** [78] et le macrocycle hexaoxazole de structure très proche **HXDV** [79, 80]. Ce dernier stabilise les G-quadruplexes ($\Delta T_{1/2}=17^{\circ}\text{C}$) sans action notable sur les duplexes ou les triplexes et est un agent cytotoxique puissant contre certaines lignées de cellules cancéreuses.

Enfin, la porphyrine **NMM**, bien que chargée négativement à pH physiologique, est un ligand de G-quadruplexe très sélectif [81, 82]. Elle présente en contre partie une affinité moindre. Ce ligand présente aussi une activité inhibitrice de certaines hélicases.

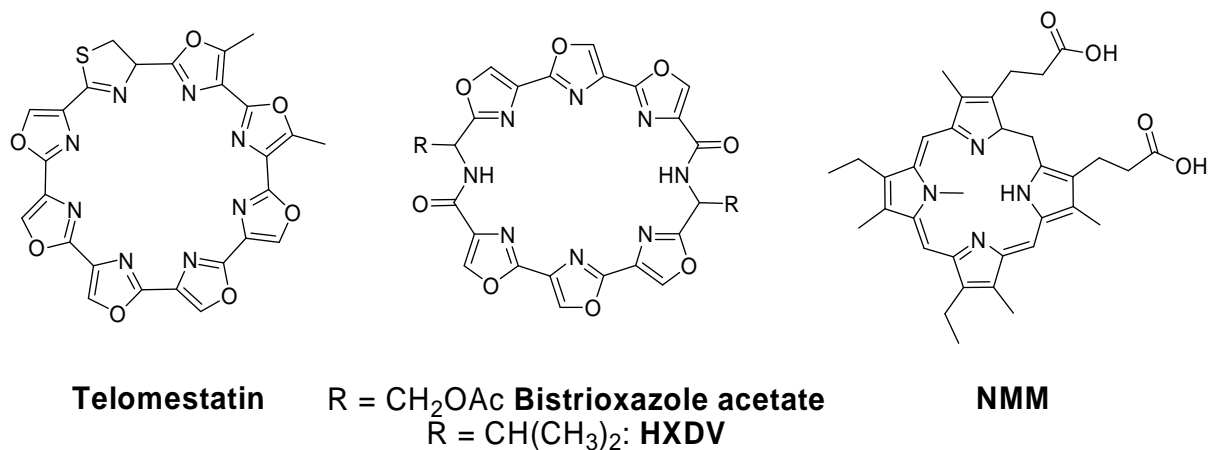


Figure 74. Exemples de ligands de G-quadruplexes neutres ou anioniques.

¹ Ce test, largement employé pour caractériser la capacité des ligands à inhiber la télomérase *in vitro*, s'est avéré inapproprié (De Cian A. *et al. Proc.Nat.Acad.Sci. USA*, **2007**, 17347)

III.1.2. Ligands protonés sur des chaînes latérales.

L'introduction de chaînes latérales protonables sur un squelette aromatique confère à une molécule un double caractère hydrophile et hydrophobe et contribue à solubiliser les systèmes aromatiques dans l'eau. Ces caractéristiques sont retrouvées dans bon nombre de ligands d'ADN et en particulier sont à l'origine du premier ligand de G-quadruplexe en tant d'inhibiteur de télomérase : l'amidoanthraquinone disubstituée **BSU1051** développée par le groupe de S. Neidle [83]. Les modifications structurales successives de cette famille ont conduit au développement d'acridines substituées [84]. La structure des acridines 3,6-disubstituées, dont le dérivé **BSU6039** (Figure 75) a permis l'obtention d'une structure RX de son association avec le quadruplexe et la confirmation de ce mode d'interaction [85], a été optimisée vers les acridines 3,6,9-trisubstituées. Celles-ci peuvent interagir avec trois des quatre sillons du G-quadruplexe. Ainsi, le ligand **BRACO-19** (Figure 75) présente une forte affinité pour les G-quadruplexes ($\Delta T_{1/2}=27^{\circ}\text{C}$), une bonne sélectivité pour ces structures par rapport aux duplexes, une activité en test d'inhibition de la télomérase et des propriétés d'inhibiteur de la prolifération de cellules cancéreuses [86, 87].

Des ligands possédant une surface aromatique plus étendue comme le pérylène diimide **PIPER** (Figure 75) ont été développés par les groupes de L. Hurley et de S. Kerwin [88]. L'état d'agrégation de ce composé, variable avec le pH, semble dicter sa sélectivité G-quadruplexe *vs* ADN duplexe [89, 90]. Des ligands pentacycliques coudés, les **quinacridines**, ont été développés au laboratoire [91]. Le meilleur ligand de cette famille **MMQ₃** (Figure 75) présente une forte stabilisation ($\Delta T_{1/2}=20^{\circ}\text{C}$) et une forte aptitude à inhiber la télomérase *in vitro*. Une structure RMN de l'interaction du dérivé **MMQ₁** avec un quadruplexe tétramoléculaire révèle le recouvrement d'un quartet externe par le cœur aromatique (empilement sur trois guanines simultanément ; les sels d'acridinium n'en recouvrant que deux) et les interactions des chaînes aminées avec les sillons du quadruplexe [92]. Notons que les triazatrinaphthylènes **TrisKs** développés au cours de ce travail sont une extension des quinacridines et que ce motif a servi de base pour la conception d'un complexe hybride présenté au Chapitre 3.

Un dimère macrocyclique de quinacridine **BOQ₁** a également été synthétisé (Figure 75). Ce composé présente une forte affinité pour le G-quadruplexe ($\Delta T_{1/2}=28^{\circ}\text{C}$), une meilleure sélectivité que le monomère correspondant et une activité d'inhibition de la télomérase [93].

Plus récemment, un certain nombre de ligands à l'accès synthétique plus rapide ont été étudiés, comme les biarylpyrimidines [94] et les bistriazoles [95, 96] (Figure 75).

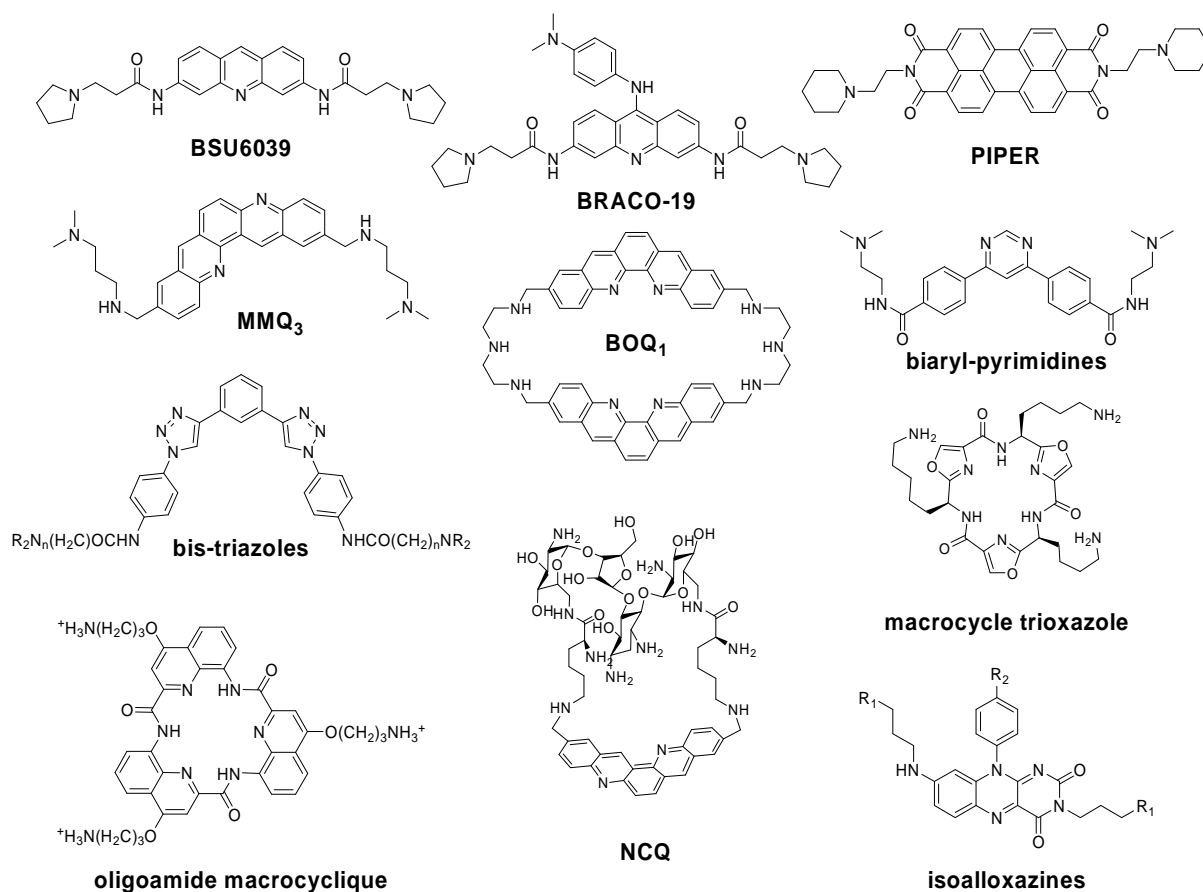



Figure 75. Ligands de G-quadruplexe, protonés sur des chaînes latérales.

Actuellement, de nouvelles stratégies visant à améliorer la spécificité d'interactions avec les structures G-quadruplexes apparaissent. Elles consistent à introduire des interactions spécifiques supplémentaires avec d'autres éléments structuraux des quadruplexes, comme les boucles. Des conjugués quinacridines-néomycine **NCQ** (Figure 75) ont été développés dans ce sens au laboratoire et montrent une forte préférence pour les structures G-quadruplexes présentant des boucles [97]. Cette approche permet d'envisager une sélectivité des ligands entre différentes structures G-quadruplexes.

Une famille de trioxazoles macrocycliques a également été développée [98, 99]. Ces derniers ont démontré une meilleure affinité pour le quadruplexe formé par la séquence du promoteur *c-kit* par rapport à la séquence télomérique (Figure 75). Un autre ligand de symétrie ternaire, également un oligoamide macrocyclique mais à base de quinolines (Figure 75), présente en revanche une très bonne affinité pour ces deux structures [100]. Cette sélectivité intra-



The figure displays the chemical structures of two fluorescent probes. On the left is DODC (1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene derivative), which features a central hexatriene chain with a dimethylaminophenyl group at one end and a 2-ethyl-5-oxaphenyl group at the other. On the right is DB832 (2,2'-bis[4-(dimethylaminophenyl)]-5,5'-bibenzofuran), which consists of two 4-(dimethylaminophenyl) groups connected via a 5,5'-bibenzofuran core.

III.1.3. Ligands N-méthylés

Dans la famille des macrocycles cationiques, la porphyrazine **3,4-TMPyPz** (Figure 77) interagit avec le G-quadruplexe télomérique humain avec de bien meilleures affinité et sélectivité [107]. Enfin la disélénosapphyrine **Se2SAP** (Figure 77) se lie fortement et spécifiquement à l'ADN quadruplexe (environ 50 fois par rapport au duplexe, évaluée par SPR - surface plasmon resonance).

Cette catégorie de ligands contient également un certain nombre de molécules non macrocycliques. Parmi elles, l'acridinium pentacyclique **RHPS4** (Figure 77) a été identifiée comme un bon inhibiteur de télomérase et un agent induisant le raccourcissement et la déprotection des télomères [108, 109]. De plus, son mode d'interaction avec une structure G-quadruplexe a été parmi les premiers à être déterminé par RMN [110].

Après s'être intéressés à des dérivés d'**éthidium** [111], les équipes de J.-L. Mergny et J.-F. Riou ont développé une famille de triazines. Le dérivé bisquinolinium **12459** (Figure 77) présente une affinité modérée ($\Delta T_{1/2}=8^{\circ}\text{C}$) mais une bonne sélectivité et une forte capacité d'inhibition de la télomérase [112]. Il induit un raccourcissement des télomères et l'apoptose dans des cellules humaines télomérase-positives. Proches structurellement, une série de **PDC**, pyridodicarboxamides [113, 114], a été étudiée plus récemment et s'avère très intéressante. Les composés **307A** et **360A** (Figure 77) présentent en effet une très forte stabilisation des G-quadruplexes ($\Delta T_{1/2}=23^{\circ}\text{C}$) et sont très sélectifs. De plus, ils inhibent la télomérase [115], et induisent un arrêt de croissance et l'apoptose de cellules immortalisées. Enfin, ces ligands apportent de nouveaux arguments pour l'existence des quadruplexes *in vivo*. En effet, le composé **360A** tritié se fixe préférentiellement dans les régions télomériques des chromosomes [37]. Des dérivés phénantrolines de ces PDC, les **Phen-DC** (Figure 77) ont été développés au sein du laboratoire [116]. Ces ligands s'adaptent parfaitement à la géométrie d'un quartet et s'avèrent particulièrement prometteurs (affinité et sélectivité comparables à la télomestatine).

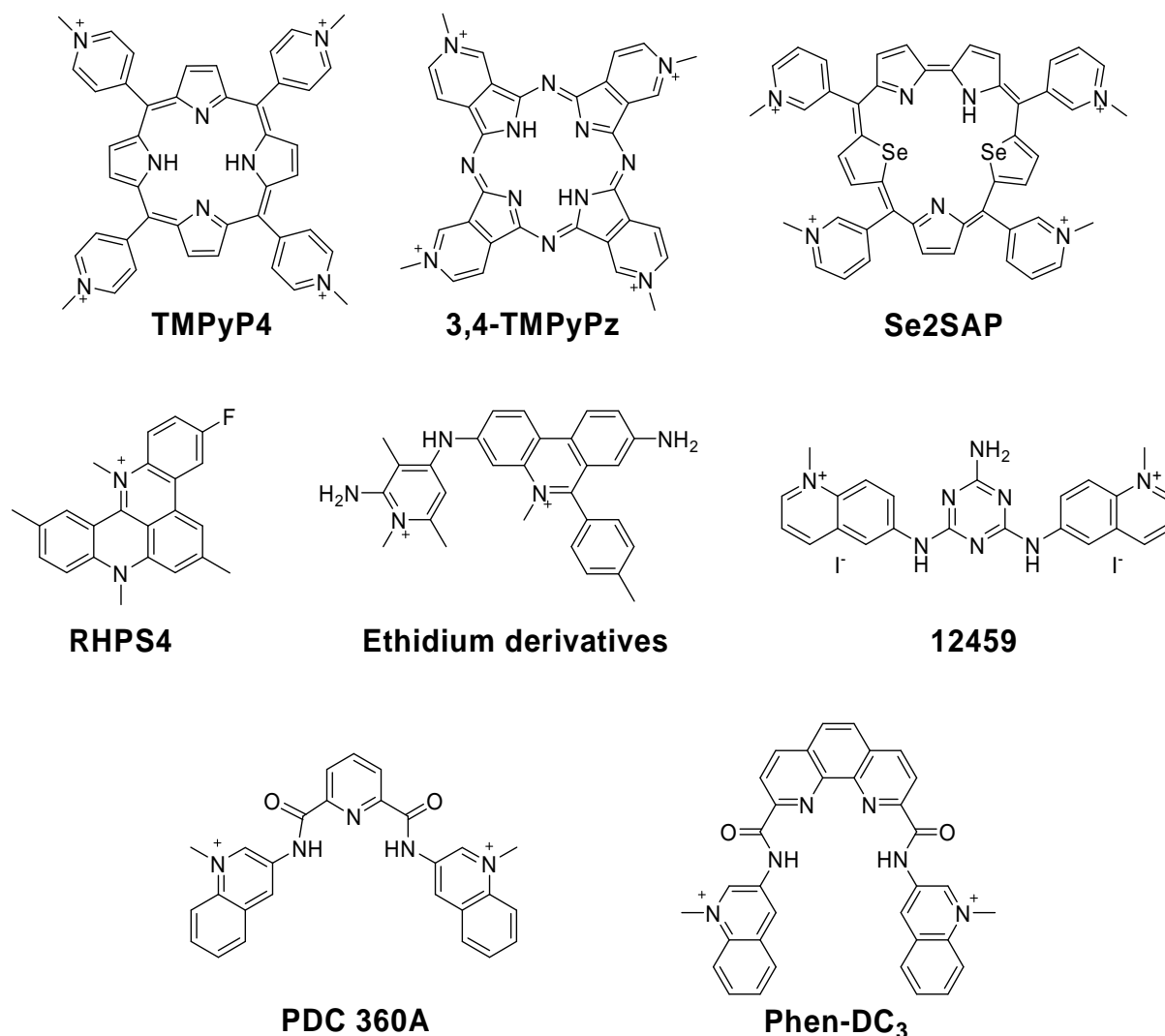


Figure 77. Exemples de ligands de G-quadruplexe cationiques par méthylations d'azotes aromatiques.

III.1.4. Complexation d'un centre métallique

Le développement de complexes métalliques en tant que ligands d'ADN quadruplexe est beaucoup plus récent. Il a été supposé que le métal central se positionne au dessus du canal ionique formé dans le G-quadruplexe, induisant ainsi un empilement optimisé de la molécule complexante sur le quartet. Nous avons étudié cette approche à travers les complexes de terpyridine présentés au Chapitre 2.

Les premiers exemples de ce type de ligands sont des complexes métalliques de Cu(II), Ni(II), Mn(III) de la porphyrine **TMPPyP4** (Figure 78, [104, 117]), les complexes métalliques de Zn(II) de la porphyrazine **TMPPyPz** [107] et de la phtalocyanine **ZnPc** [118]. Parmi les plus performants, le **Ni(II)-salphène** (Figure 78, [119]) est décrit avec une très forte affinité ($\Delta T_{1/2}=33^{\circ}\text{C}$) et une très bonne sélectivité. La **Mn(III)-porphyrine** (Figure 78, [120]) possède

également une grande affinité pour le G-quadruplexe de la séquence télomérique humaine et une sélectivité d'un facteur 10000 vis-à-vis du duplexe a été rapportée (évaluée par SPR).

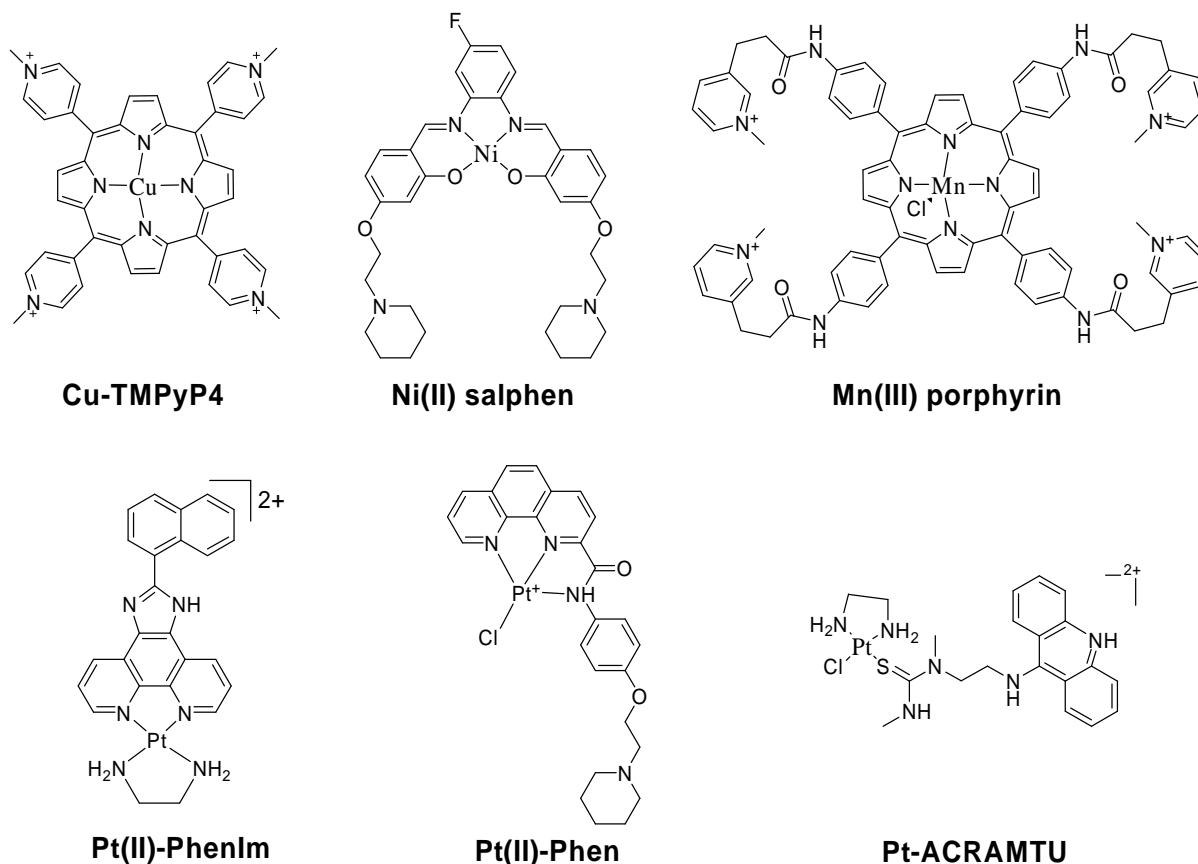


Figure 78. Exemples de complexes métalliques en tant que ligands de G-quadruplexes (les contre-ions sont Cl^- pour **Cu-TMPYP4**, **Mn(III)-porphyrin**, **Pt(II)-Phen** et **Pt(II)-PhenIm** et NO_3^- pour **Pt-ACRAMTU**).

Enfin, très étudiés pour l'interaction avec l'ADN duplexe, des premiers exemples de complexes de platine conçus en tant que ligands de G-quadruplexe sont apparus très récemment dans la littérature, de façon concomitante à nos travaux. Ces complexes peuvent être divisés en deux classes. La première regroupe ceux qui ne possèdent pas de ligand labile ; ce sont des ligands 'réversibles' n'introduisant pas de liaison quasi-covalente avec l'ADN. Ainsi les complexes $[\text{Pt}(\text{en})\text{PhenIm}]^{2+}$ (Figure 78) du groupe de H. Sleiman présentent une stabilisation significative du quadruplexe tétramoléculaire $(\text{T}_4\text{G}_4\text{T}_4)_4$ et une sélectivité d'un facteur 2 par rapport au duplexe. De manière surprenante, la modélisation moléculaire propose un empilement de ces complexes sur un quartet externe dans lequel le Pt est décentré. Ceci est expliqué par la présence de liaisons hydrogène entre l'éthylène diamine et le squelette de la structure quadruplexe [121]. Les complexes de la deuxième classe possèdent un ligand labile et peuvent donc introduire une interaction irréversible avec les quadruplexes.

Le **Pt(II)(phen)** (Figure 78) induit une forte stabilisation du quadruplexe ($\Delta T_{1/2}=20^{\circ}\text{C}$) avec une sélectivité de 40 (établie par FRET) [122]. Des études de platination n'ont pas encore été menées. Enfin le complexe hybride **Pt-ACRAMTU** (Figure 78), très exploité pour sa propension à former des adduits avec les adénines de l'ADN duplexe [123], a démontré sa capacité à plater les adénines des boucles TTA du quadruplexe dérivé de la séquence télomérique humaine [124].

III.2. Effets cellulaires des ligands de G-quadruplexe

Certains des ligands présentés précédemment (en particulier **télomestatine**, **BRACO-19**, **12459**, **RHPS4** et **307A/360A**) ont été étudiés pour leurs effets cellulaires. Initialement conçus en tant qu'inhibiteurs indirects de la télomérase par modification conformationnelle de son substrat, leur mode d'action se révèle plus complexe et diversifié [71].

Un traitement à long terme de cellules cancéreuses humaines à des doses subtoxiques par certains ligands (**télomestatine** [125], **BRACO-19** [126], **12459** [127], **RHPS4** [128]) induit un raccourcissement des télomères et la sénescence rapide, incompatible avec une action reposant uniquement sur l'érosion télomérique naturelle qui est un processus lent. Le raccourcissement rapide des télomères observé dans certains cas laisse donc supposer que l'inhibition de la télomérase n'est pas le seul effet de ces ligands. Par ailleurs des aberrations chromosomiques (fusions chromosomiques, ponts anaphasiques par exemple) ont été observées à court terme avec ces ligands [112, 129]. Celles-ci ne peuvent également pas être expliquées par la seule inhibition de la télomérase. Notons que, dans certains cas, ces aberrations ne sont pas accompagnées d'une érosion des télomères.

Parmi les effets cellulaires notables, notons encore que **BRACO-19** [126] et **RHPS4** [128] induisent une expulsion de la sous-unité catalytique hTERT du noyau dans le cytoplasme. Le traitement de cellules tumorales par la **télomestatine** et **BRACO-19** induisent une délocalisation de POT1 et de TRF2 (pour la **télomestatine**) [76, 130-132]. Enfin, un effet anti-prolifératif significatif de certains ligands (**RHPS4**, **307A**) a été observé dans des cellules ALT (donc en absence d'activité télomérase) [114, 133].

L'ensemble des études cellulaires suggère donc que, au-delà d'une inhibition indirecte de la télomérase, les ligands de G-quadruplexe agissent sur la structure des télomères. Ils pourraient ainsi induire leur déprotection et des dysfonctions télomériques, conduisant à la mort ou l'arrêt de prolifération des cellules (Figure 79). En effet, le fait de perturber la fixation des protéines du complexe shelterin augmente grandement l'instabilité chromosomique et permet,

par là même, d'expliquer les aberrations observées au niveau des chromosomes. D'autre part, les protéines de la shelterin ont aussi un rôle dans le recrutement de la télomérase ; c'est pourquoi leur absence se traduit par la délocalisation de la sous-unité hTERT dans le cytoplasme. Les ligands de G-quadruplexes semblent donc posséder un mode d'action original basé sur la perturbation de l'organisation ribonucléoprotéique des télomères.

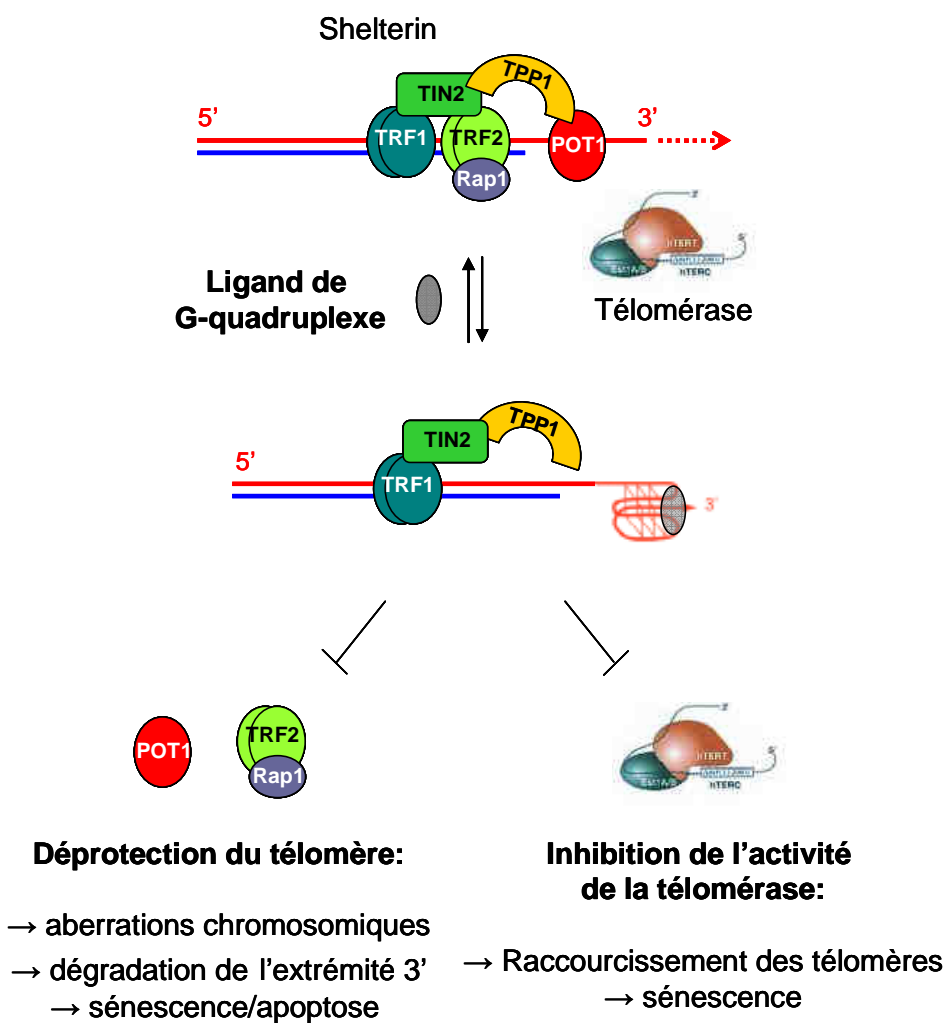


Figure 79. Possibles modes d'actions des ligands de G-quadruplexes au niveau des télomères.

III.3. Evaluation des ligands de G-quadruplexes : modes d'interaction, affinité et sélectivité

III.3.1. Etudes structurales

De nombreuses techniques sont utilisées pour étudier et caractériser, d'un point de vue structural, l'interaction d'un ligand avec les G-quadruplexes. Parmi celles-ci, la

cristallographie permet d'obtenir des informations structurales précises sur le mode d'interaction d'un ligand avec ces structures. Les techniques de cristallographie ont tout d'abord joué un rôle important dans l'étude des structures G-quadruplexes elles-mêmes et ont notamment fourni des données sur l'emplacement des ions au sein de celles-ci [134]. Plus de vingt structures ont ainsi été résolues. Cependant, les conditions utilisées pour la cristallisation peuvent induire des repliements de G-quadruplexes différents de ceux formés en solution. Par ailleurs, des structures cristallographiques sur les complexes formés par les ligands **BSU6039** [85], **daunomycine** [135], **BRACO-19** [136] et un naphthalène diimide tétrasubstitué [137] avec des G-quadruplexes ont été obtenues et confirment un mode d'interaction par empilement sur les quartets externes (Figure 80).

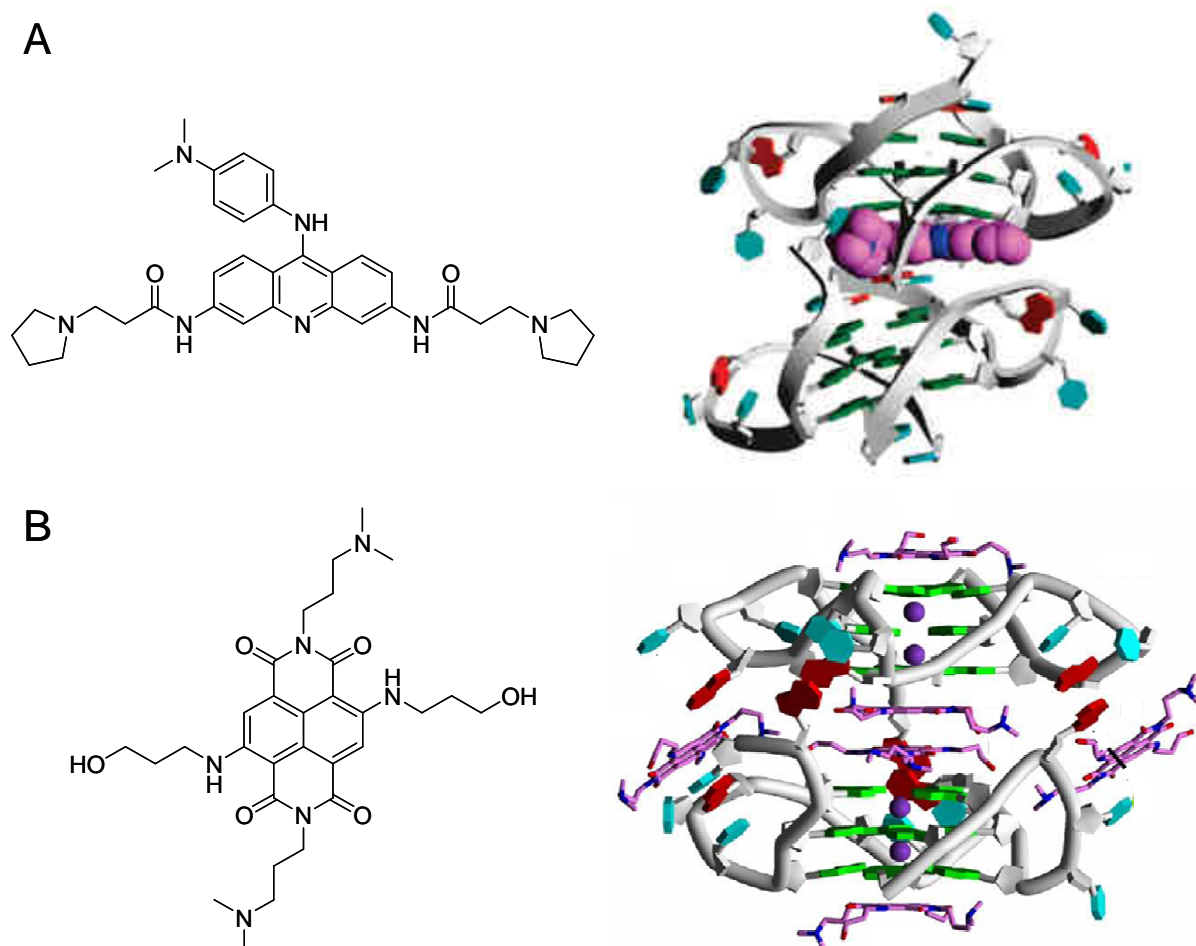


Figure 80. Structures cristallographiques du complexe de BRACO-19 avec un G-quadruplexe bimoléculaire (A, d'après [136]) et du complexe d'un naphthalène diimide tétrasubstitué avec un G-quadruplexe intramoléculaire (B, d'après [137]). Les ligands sont visualisés en violet.

De nombreuses études structurales ont été réalisées par RMN [53]. Cette technique permet en effet de démontrer formellement la formation d'une structure en solution à partir d'une

séquence donnée. Pour réduire le nombre de complexes en solution, seuls des fragments des séquences d'intérêt sont sélectionnés et des mutations des bases peuvent être introduites, ce qui peut à nouveau influencer la structure formée. La RMN [138] permet cependant d'obtenir des informations précieuses sur les interactions de ligands avec les structures G-quadruplexes. Les études relatives aux ligands **PIPER** [88], **RHPS4** [110] (Figure 81 haut) ou **MMQ1** [92] (Figure 81 bas) confirment également une interaction par empilement sur les quartets externes.

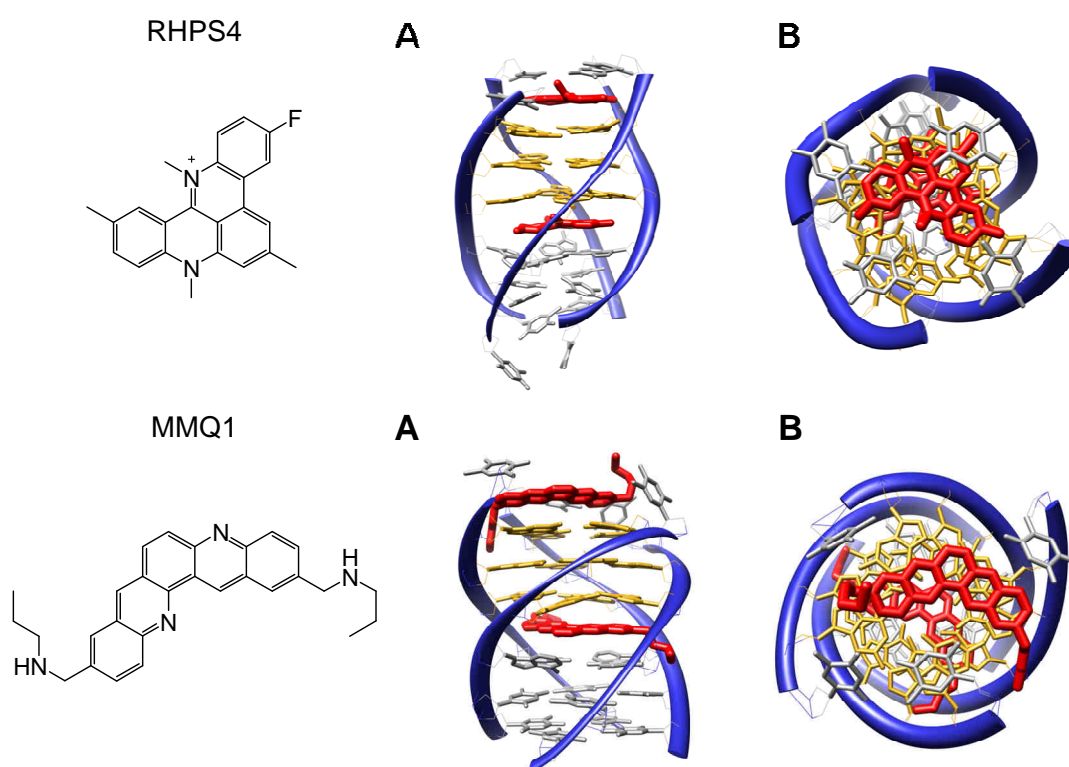


Figure 81. Structures RMN de complexes de ligands avec le G-quadruplexe tétramoléculaire (d[T₂AG₃T])₄, A : vue de côté et B : vue de dessus. Haut : **RHPS4** et Bas : **MMQ1**

Parmi les techniques fournissant des informations sur la structure des complexes ligand/ADN G-quadruplexe, on peut également citer le dichroïsme circulaire (CD) [10, 139]. La spectroscopie en lumière polarisée permet de caractériser la conformation d'acides nucléiques. En effet, ceux-ci n'absorbent pas autant les composantes gauche et droite d'une lumière polarisée circulairement. Il en résulte une onde de polarisation elliptique caractéristique de leur structure. Bien qu'à interpréter avec précaution, cette technique fournit des informations sur les conformations des G-quadruplexes, parallèle ou anti-parallèle et éventuellement sur l'interaction avec un ligand. Pour cela, le phénomène de CD induit est

plus indicatif. En effet, les ligands, achiraux, se caractérisent par des signaux CD quand ils interagissent avec l'ADN en raison de leur environnement chiral. Les signaux de CD induit reflètent une interaction de la molécule avec l'ADN et peuvent fournir des informations sur le mode de fixation. Cette technique a été abordée lors de ce travail de thèse et sera donc rediscutée dans le prochain chapitre.

III.3.2. Techniques permettant d'évaluer l'affinité et la sélectivité

De nombreuses techniques permettent d'évaluer l'affinité et la sélectivité d'un ligand pour les G-quadruplexes et donnent accès à des paramètres thermodynamiques ou cinétiques. Nous énumérons ici les méthodes les plus fréquemment utilisées en ne détaillant le principe que de celles utilisées dans ce travail de thèse [73, 140].

- *Les titrations par méthodes spectroscopiques UV ou fluorescence* [141].
- *La dialyse à l'équilibre* [81, 142, 143].
- *La résonance de plasmon de surface* [103, 144] (SPR surface plasmon resonance).
- *La spectrométrie de masse, ionisation par électrospray (ESI-MS)* [145, 146].
- *Les migrations sur gel, empreintes au DMS et digestion enzymatique* [147, 148] ont été utilisées pour étudier la platination des structures G-quadruplexes. Elles seront présentées au Chapitre 3.
- *La dénaturation thermique suivie par FRET* [149, 150] (fluorescence resonance energy transfer ou transfert d'énergie d'excitation de fluorescence par résonance) : le chauffage d'une solution d'ADN structuré (double hélice, triplex, quadruplexe) entraîne la destruction de sa structure secondaire par rupture des liaisons hydrogène (dénaturation). On définit alors la température de demi-fusion ($T_{1/2}$) d'un oligonucléotide donné comme sa température de demi-dissociation. Une interaction stabilisante d'un ligand avec une structure d'ADN a pour effet de déplacer l'équilibre entre les formes structurées et dénaturées de l'ADN et de retarder sa fusion. La différence entre les températures de fusion de l'oligonucléotide seul et en présence de ligand ($\Delta T_{1/2}$) reflète ainsi l'affinité du composé pour la structure d'ADN. La méthode présentée ici consiste à suivre cette dénaturation thermique en exploitant le phénomène de FRET pouvant avoir lieu entre deux chromophores. Celui-ci réside dans un transfert d'énergie de fluorescence d'un donneur à un accepteur. Ce phénomène se produit lorsque que les fluorophores sont proches l'un de l'autre, convenablement orientés et s'il y a un recouvrement partiel du spectre d'émission de l'un et du spectre d'excitation de l'autre. Ainsi, cette technique utilise l'oligonucléotide modifié F21T (5'-FAM-GGG(TTAGGG)₃-TAMRA-3'),

mimant la séquence télomérique humaine et se structurant en G-quadruplexe intramoléculaire couplé à ses extrémités à deux fluorophores : la 6-carboxyfluorescéine FAM (donneur) en 5' et la tétraméthylrhodamine TAMRA (accepteur) en 3'. Lorsque l'oligonucléotide est sous forme simple brin (haute température), les deux fluorophores sont trop éloignés l'un de l'autre pour que le FRET ait lieu. Lorsque l'oligonucléotide est structuré en G-quadruplexe (basse température), la distance entre les deux fluorophores est suffisamment faible et leur orientation relative adéquate, il y a donc transfert d'énergie de la fluorescéine vers la tétraméthylrhodamine (Figure 82A). La mesure est effectuée en excitant le système à 470nm et en suivant la restauration de la fluorescence de la fluorescéine (520nm) avec l'augmentation de la température.

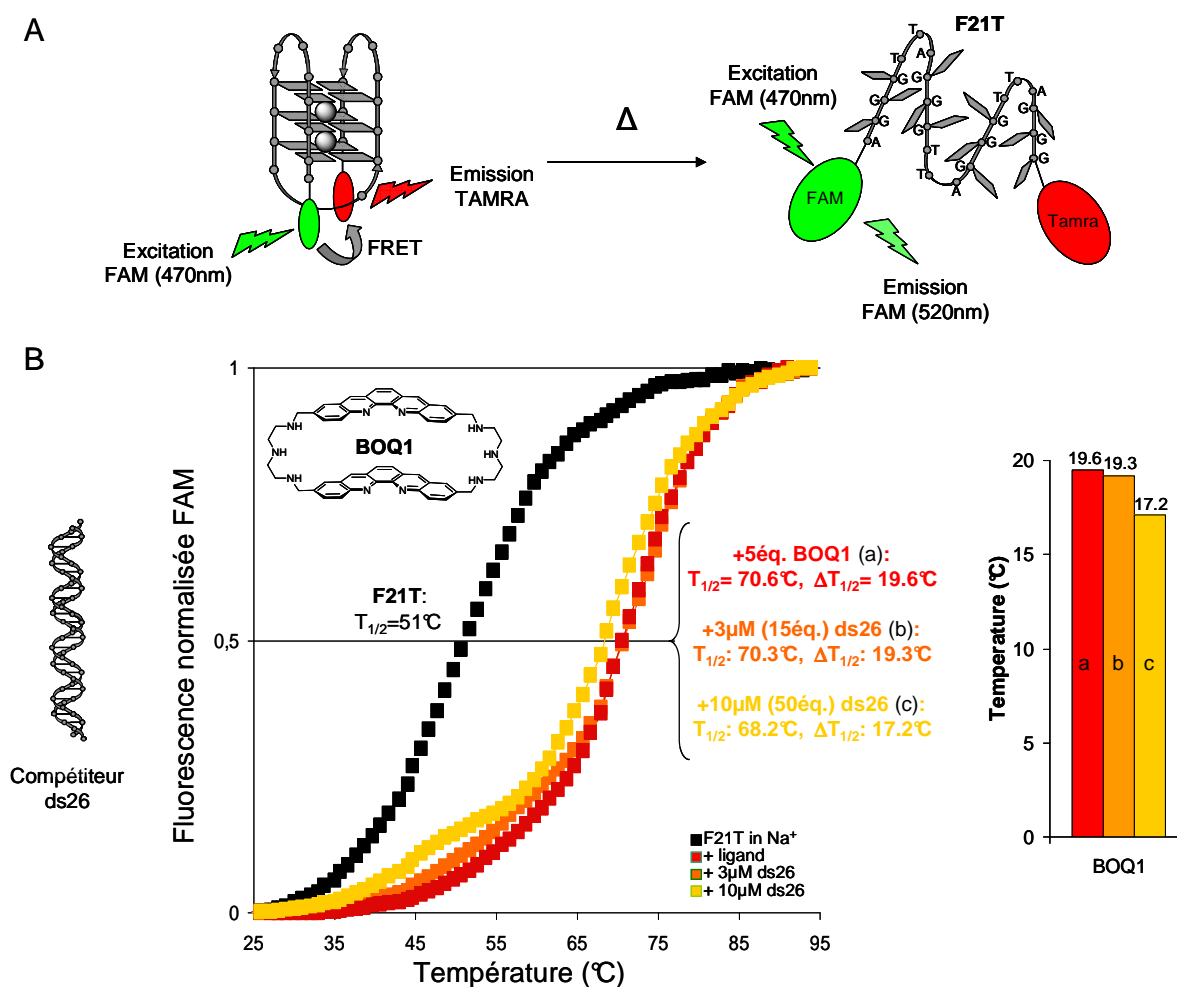


Figure 82. A. Principe de la dénaturation thermique suivie par FRET. B. Exemple du ligand **BOQ1**, courbe noire: F21T seul (0.2µM), courbe rouge: avec 5éq de ligand, courbes oranges: avec 15 et 50éq (soit 3 et 10µM) de duplexe compétiteur ds26. Les $\Delta T_{1/2}$ obtenus sont reportés sous forme de diagramme barres.

Cette méthode permet une très bonne évaluation de l'affinité d'un ligand pour la structure G-quadruplexe et la comparaison directe entre différents ligands. Elle permet également d'évaluer leur sélectivité en introduisant un ADN duplexe compétiteur à différentes concentrations (ds26, de séquence auto complémentaire d[CA₂TCG₂ATCGA₂T₂CGAT-C₂GAT₂G], 3 et 10 μM soit 15 et 50 équivalents (exprimés en concentration en brin)), induisant une diminution plus ou moins importante du ΔT_{1/2}. Cette sélectivité est quantifiée par le paramètre de sélectivité S égal au rapport des températures de demi-dissociation de l'oligonucléotide F21T en absence et en présence de duplexe ds26, selon l'expression :

$$S_x = \frac{\Delta T_{1/2}(+ds26)}{\Delta T_{1/2}(-ds26)} \text{ avec } x=[ds26] (\mu M)$$

Les valeurs obtenues reflètent une interaction privilégiée avec le G-quadruplexe (S→1) ou avec l'ADN duplexe (S→0). Ainsi, comme le montre la Figure 82B à travers l'exemple du ligand **BOQ1**, le test FRET révèle ici une très bonne affinité (ΔT_{1/2}=19.6°C) et une remarquable sélectivité. On constate en effet que l'ajout de 3 ou 10 μM (soit 15 ou 50 équivalents) de duplexe compétiteur ne modifie que très peu la stabilisation (ΔT_{1/2}=19.3 et 17.2°C respectivement) donnant des valeurs de sélectivité de S₃=0.98 et S₁₀=0.88.

Les ligands développés au cours de ce travail de thèse ont été systématiquement évalués par cette méthode au laboratoire de J.-L. Mergny par A. De Cian et A. Guedin. Les résultats seront présentés sous forme de courbes de fluorescence ou de diagrammes barres représentant les ΔT_{1/2} obtenus en absence ou en présence de duplexe compétiteur (Figure 82B). Les conditions expérimentales sont décrites dans [150] et sont précisées en partie expérimentale.

- *Le test G4-FID* (G-quadruplex Fluorescent Intercalator Displacement) [151, 152] a été développé récemment au laboratoire et permet d'évaluer l'affinité et la sélectivité d'un ligand pour différentes structures G-quadruplexes; il consiste à marquer la structure d'ADN par une sonde fluorescente, ici le thiazole orange (TO), dont la fluorescence est très fortement exaltée en présence d'ADN. Celui-ci est particulièrement adapté car il présente une affinité comparable pour les G-quadruplexes et pour l'ADN duplexe. L'ajout de quantités croissantes d'un ligand entraîne un déplacement de cette sonde par compétition et donc une diminution de la fluorescence (Figure 83).

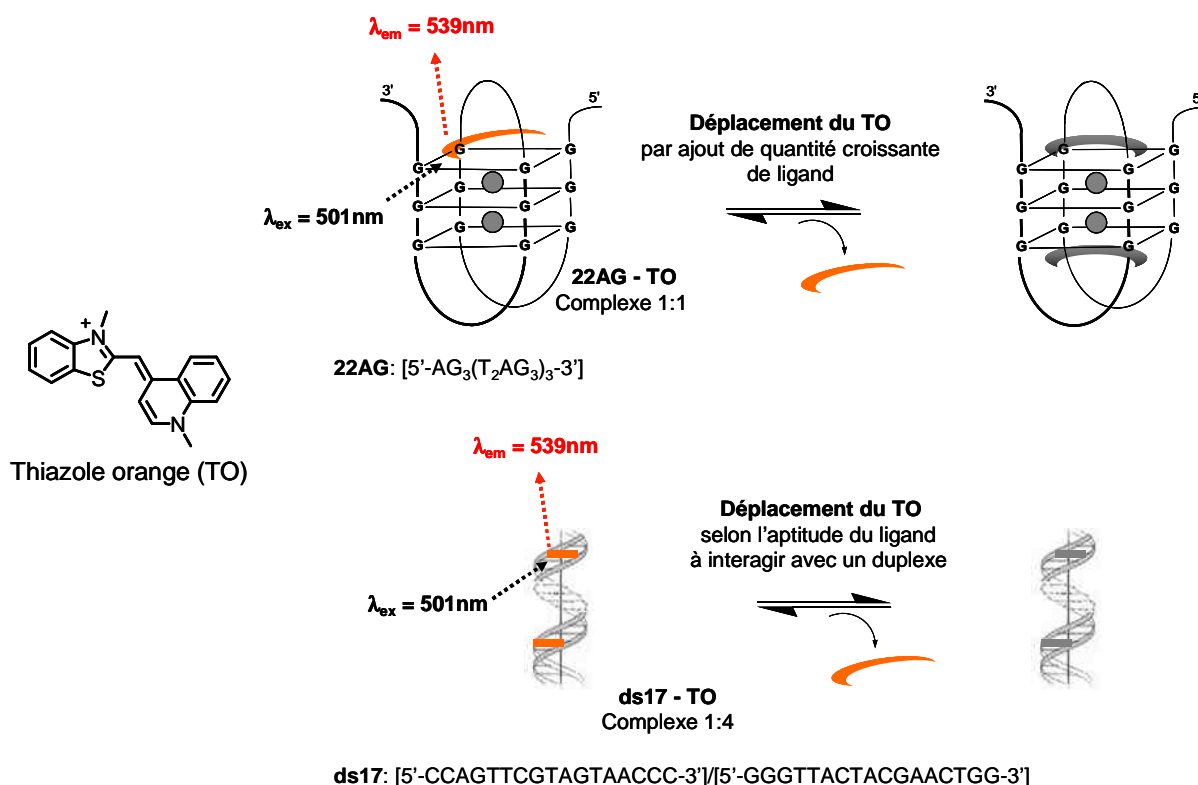


Figure 83. Schéma de principe du test FID sur une matrice ADN G-quadruplexe (22AG, dérivée de la séquence télomérique humaine) et ADN duplexe (ds17).

Cette diminution de fluorescence est suivie en fonction de la concentration du ligand et fournit une évaluation de l'affinité de ce dernier. Les résultats sont présentés sous forme de courbes de déplacement du TO (pourcentage de diminution de fluorescence) en fonction de la concentration en ligand (Figure 84 gauche). L'affinité d'un ligand pour une structure d'ADN est exprimée par la concentration nécessaire pour induire une baisse de 50% de la fluorescence initiale (DC_{50}). Cette grandeur est définie pour les structures G-quadruplexes ($^{\text{G}4}\text{DC}_{50}$) et pour les ADN duplexes ($^{\text{ds}}\text{DC}_{50}$) (Figure 84 milieu). Le rapport des valeurs ainsi obtenues donne une évaluation de la sélectivité du ligand étudié ($\text{Sélectivité} = ^{\text{ds}}\text{DC}_{50} / ^{\text{G}4}\text{DC}_{50}$). Ces valeurs sont parfois présentées sous forme de diagramme barres (Figure 84 droite).

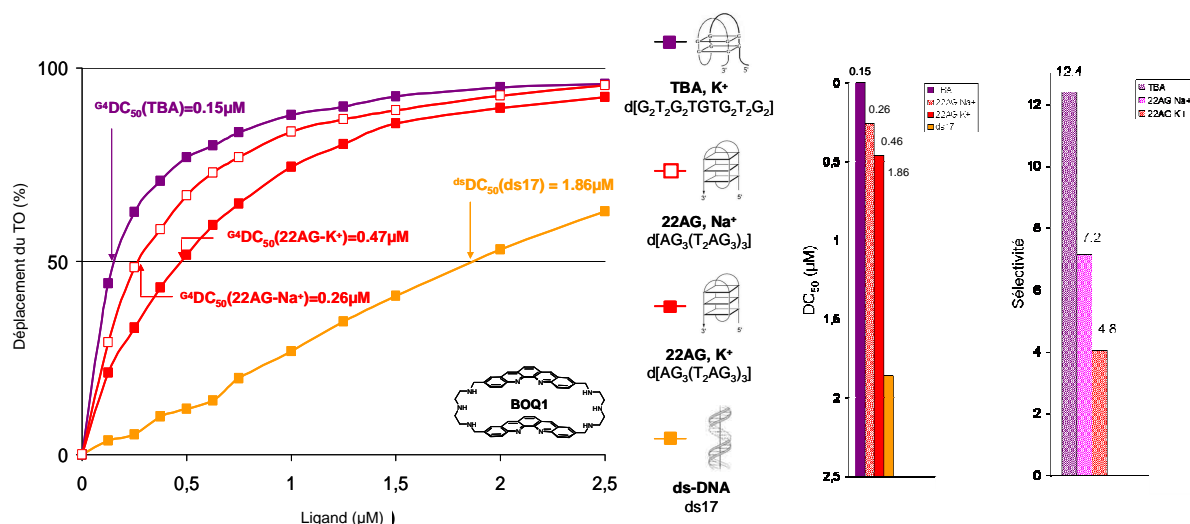


Figure 84. Résultats G4-FID pour le **BOQ1**. Gauche : courbes de déplacement du TO avec le TBA (violet), le 22AG en tampon sodium (rouge carrés blancs) et en tampon potassium (rouge) et le ds17 (orange). [Oligonucléotide]=0.25 μM, [TO]=0.5 μM pour TBA, 22AG et ds17. Milieu : diagramme barres représentant les DC₅₀ obtenus. Droite : diagramme barres représentant les valeurs de sélectivité pour chaque G-quadruplexe vis-à-vis du duplexe.

Avec certains ligands interagissant très peu avec les ADN duplexes, le seuil de 50% de déplacement du TO n'est jamais atteint (même avec dix équivalents de ligand). Dans ce cas, la sélectivité ne peut pas être évaluée par le rapport $^{ds}DC_{50}/^{G4}DC_{50}$ précédemment défini, les valeurs de $^{ds}DC_{50}$ n'étant pas accessibles. La sélectivité est alors estimée de la façon suivante : la valeur $^{ds}D(2.5 \mu M)$, correspondant au pourcentage de déplacement du TO à 2.5 μM en ligand, est relevée; on définit alors la concentration en ligand nécessaire pour atteindre le même pourcentage de déplacement pour les ADN G-quadruplexes ^{G4}C ; la sélectivité est enfin estimée par le rapport $S_{est}=2.5/^{G4}C$ (voir Chap. 1, §II.3.2).

Ce test G4-FID présente de nombreux avantages. Il est rapide et simple à mettre en œuvre et réalisé dans des conditions physiologiques (pH, température, force ionique) en présence de différents cations. Il ne nécessite pas d'oligonucléotides modifiés et est compatible avec de nombreuses structures d'ADN, G-quadruplexes (22AG, mimant la séquence télomérique humaine ou TBA, Thrombin Binding Aptamer) ou duplexes (ds17 ou ds26). De plus, les résultats obtenus par ce test sur de nombreux ligands présentent une bonne corrélation avec ceux fournis par d'autres méthodes ([152] et Chapitres suivants). Quelques limitations cependant : la compétition entre le ligand et la sonde fluorescente peut être indirecte si leur site de fixation est différent et le fort polymorphisme des G-quadruplexes peut éventuellement conduire à la formation de différents complexes. Enfin, bien que cette situation soit rare, ce test n'est pas adapté aux ligands présentant un recouvrement spectral avec la sonde

fluorescente (**TMPyP4** par exemple) ou nécessite alors une modification des conditions expérimentales.

Les ligands développés au cours de cette thèse ont été systématiquement évalués par ce test et comparés aux résultats donnés par le test FRET. Ces deux méthodes, complémentaires, permettent ainsi une double évaluation des composés. Les conditions expérimentales du test FID sont décrites dans [152] et sont précisées en partie expérimentale.

Chapitre 1 : Ligands de G-quadruplexe de symétrie ternaire

Nous nous sommes tout d'abord intéressés à l'interaction de ligands de symétrie ternaire avec les G-quadruplexes. Cette symétrie, jusqu'alors peu exploitée, semble offrir de nouvelles possibilités en termes d'interactions avec ces structures [98, 100, 153]. Deux stratégies ont été suivies pour la conception de ces ligands : nous avons d'une part adapté la famille des TrisKs (présentée en première partie de ce travail) à cette application en les substituant par des chaînes aminées protonables ; d'autre part, un dérivé de même symétrie mais possédant trois azotes intracycliques chargés, le trisquinolizinium (TrisQ), a été développé. Les interactions de ces composés avec les G-quadruplexes de la séquence télomérique humaine ont été étudiées.

I. TrisKs substitués par des chaînes aminées.

I.1. Origine du design.

Comme nous l'avons précisé dans l'introduction, les quinacridines, molécules pentacycliques coudées développées au laboratoire sont des ligands de G-quadruplexe de haute affinité [91]. Pour atteindre une forte affinité pour les structures G-quadruplexes, ce motif doit être disubstitué par des chaînes polyaminées ou porter un azote intracyclique chargé positivement (N-méthylé, Figure 85).

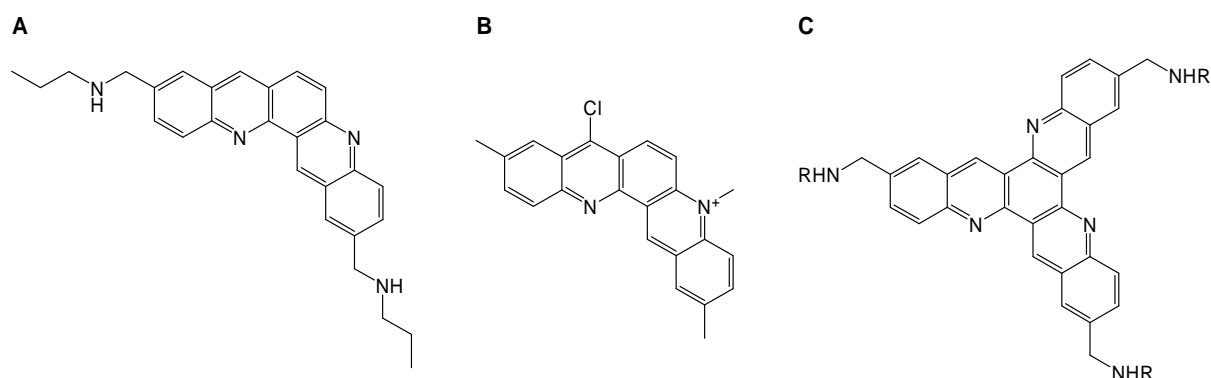


Figure 85. Structures chimiques **A.** MMQ1, quinacridine disubstituée, **B.** MMQ16, quinacridine N-méthylée, **C.** TrisK trisubstitué par des chaînes aminées.

Une étude RMN sur le complexe du dérivé **MMQ1** avec un G-quadruplexe tétramoléculaire révèle le bon recouvrement des quartets externes (trois guanines sur quatre) par le motif aromatique quinacridine [92] (Figure 86A). De manière à optimiser et à accroître ce recouvrement de la tétrade, nous avons développé la famille des TrisKs possédant une surface aromatique plus étendue et pouvant être considérés comme des analogues à trois branches des quinacridines (Figure 85 et Figure 86B). Nous avons introduit différentes chaînes aminées sur ce cœur aromatique pour augmenter la solubilité dans l'eau de ces composés et entraîner la formation d'interactions électrostatiques avec l'ADN. Ces variations structurales avaient aussi pour objectif d'obtenir des indications sur les relations structure-activité de ces ligands de symétrie ternaire.

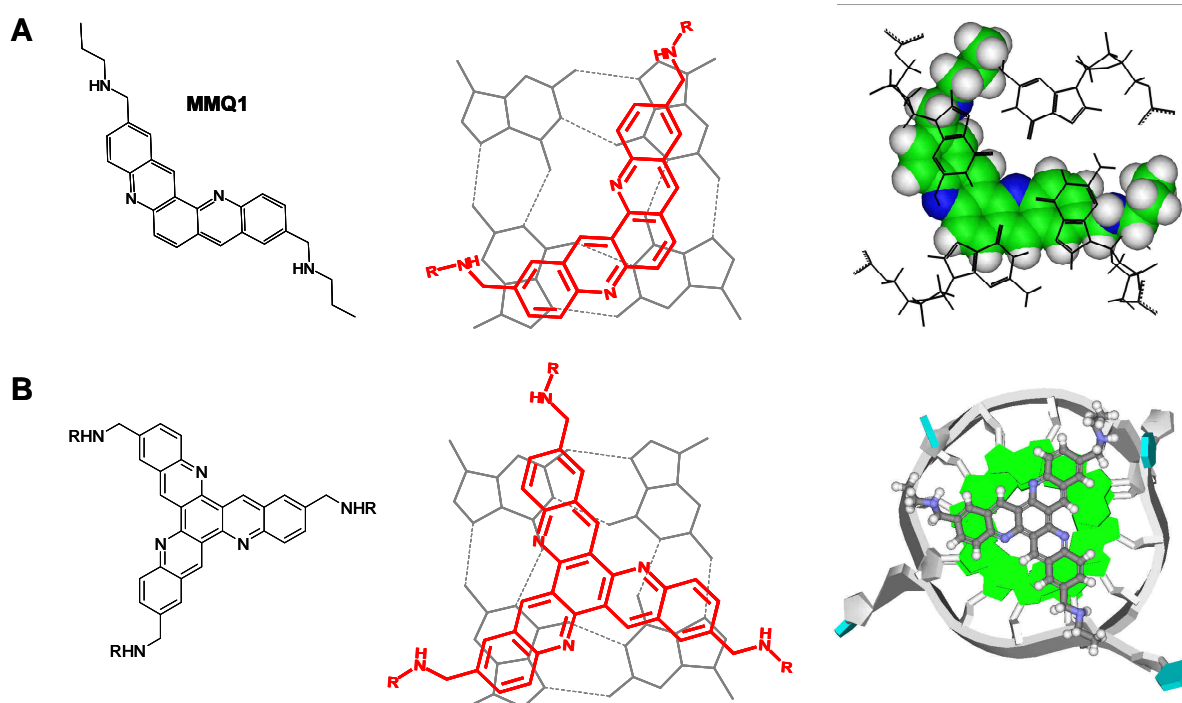


Figure 86. **A.** Interaction de **MMQ1** avec un quartet : études RMN avec un G-quadruplexe tétramoléculaire ((T₂AG₃T)₄) et **B.** Proposition de modèle pour l'interaction d'un TrisK avec un quartet externe d'une structure quadruplexe.

L'étude RMN de **MMQ1** avait montré l'importance de l'interaction chaînes polyaminées/sillon pour une fixation forte de la structure quadruplexe. De même nous attendons de la série TrisK, outre un recouvrement optimisé des quartets, un triple ancrage dû aux trois chaînes aminées.

I.2. Synthèse des Trisamino-TrisKs.

Par analogie avec les quinacridines [92], nous avons tenté dans un premier temps d'introduire des chaînes aminées aux extrémités des branches des TrisKs (voie A, Schéma 8).

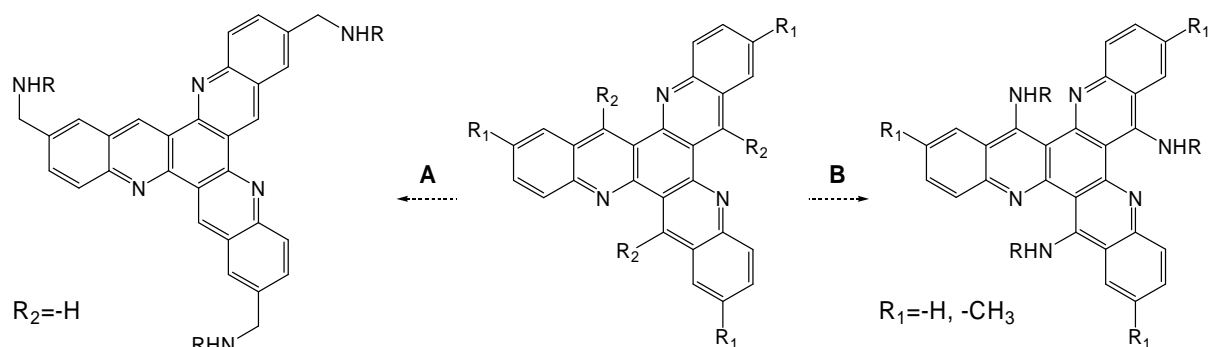


Schéma 8. Stratégies envisagées pour l'introduction de chaînes aminées sur le squelette aromatique des TrisKs.

La substitution par ces chaînes aminées a été envisagée soit par amination réductrice sur le TrisK portant trois groupements aldéhyde en position R_1 soit par réaction de Williamson sur le dérivé fonctionnalisé par trois groupes bromométhyles ($R_1 = -CH_2Br$). Cependant, partant du TrisK **8b**, toutes les tentatives de bromation des méthyles (NBS, peroxyde de benzoyle, CCl_4) ou d'oxydation des méthyles en aldéhyde (dioxyde de sélénium dans le naphthalène ou dans le dioxane) ont échoué (Schéma 9). Dans ce dernier cas, aucun pic d'aldéhyde n'est observé en RMN. Ces échecs sont attribués à une très faible solubilité de ces produits entraînant une faible réactivité par rapport aux quinacridines et à des difficultés d'analyse.

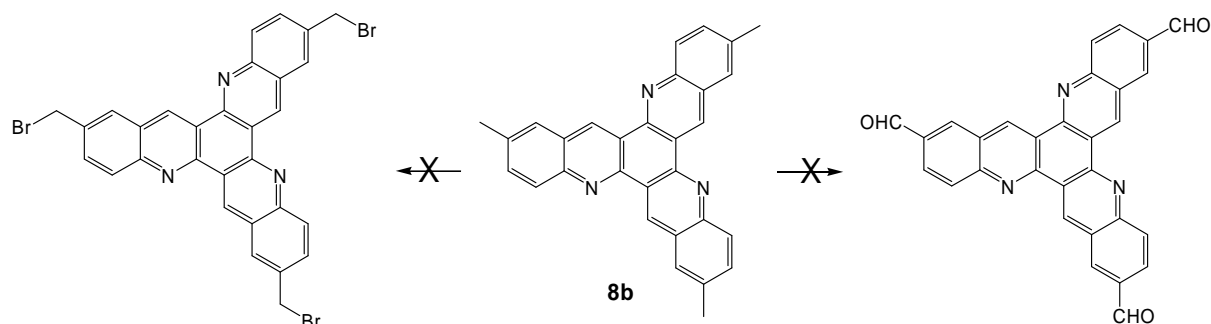


Schéma 9. Tentatives de bromation et d'oxydation du TrisK **8b**.

Nous avons donc introduit les chaînes aminées dans les régions internes du cœur aromatique par substitution directe des chlores portés par les dérivés TrisKs chlorés **7a** et **7b** (voie B, Schéma 8). Notons que nous avons utilisé ces deux cœurs (**7a** $R_1 = -H$ ou **7b** $R_1 = -CH_3$) pour

étudier l'éventuel impact de la présence de carbones sp^3 autour du squelette aromatique sur l'association avec le G-quadruplexe. Par ailleurs, afin de comprendre leur influence, des amines de différentes longueurs ou portant des fonctions terminales différentes ont été choisies : 1-aminopropane (pour **9b**), 1-amino-2-méthoxypropane (pour **10a** et **10b**), N,N-diméthyl-1,2-diaminoéthane (pour **11a** et **11b**), N,N-diméthyl-1,3-diaminopropane (pour **12a** et **12b**), 1,2-diaminoéthane (pour **13a** et **13b**) et 1,3-diaminopropane (pour **14a** et **14b**). Leur introduction directe par reflux des TrisKs chlorés dans l'amine pure est efficace (Schéma 10); les Trisamino-TrisKs finaux **9-14** sont cependant isolés avec des rendements variables selon la difficulté de leur purification par chromatographie sur colonne de gel de silice (Tableau 9). Ces synthèses pourraient être optimisées par l'utilisation d'un couplage catalysé par des sels de palladium par exemple.

Avant d'étudier l'interaction *in vitro* de ces Trisamino-TrisK **9-14** avec les G-quadruplexes formés par un oligonucléotide dérivé de la séquence télomérique humaine, nous avons estimé leur charge positive globale à pH physiologique.

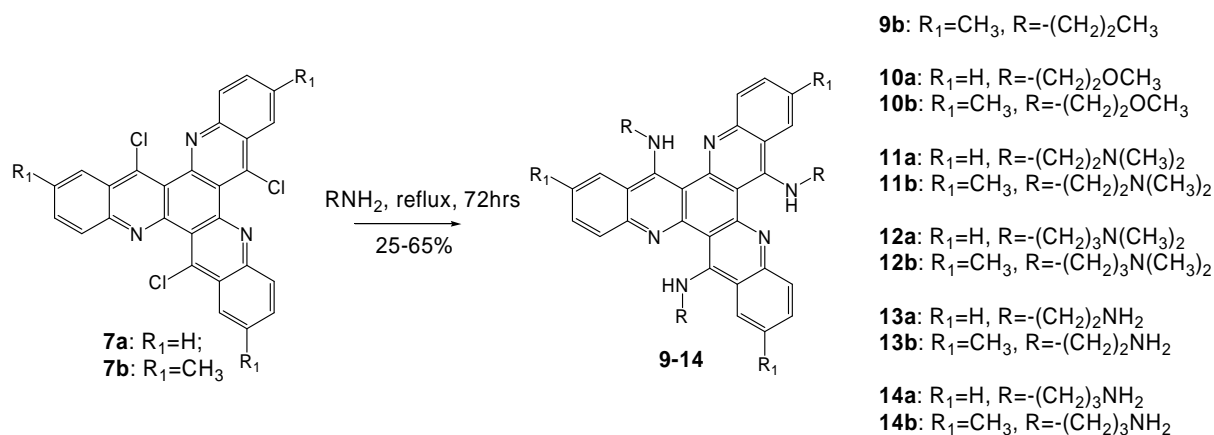


Schéma 10. Synthèse des Trisamino-TrisKs **9-14**.

Trisamino-TrisK	rendement (%)	
	a	b
9	- ^a	40
10	47.2	49.3
11	49.3	63
12	55	52.5
13	78	55
14	23	32.2

Tableau 9. Rendements chimiques des Trisamino-TrisKs **9-14**. ^a: produit non synthétisé.

I.3. Etudes spectroscopiques : estimation de la charge des Trisamino-TrisKs à pH physiologique.

Les dérivés Trisamino-TrisKs possèdent trois types d'azotes qui se différencient par leur position : les azotes aromatiques intracycliques (notés N1), les azotes de type aniline en position *para* des azotes N1 (notés N2) et pour la plupart d'entre eux (**11-14 a-b**) les azotes aliphatiques en bout de chaînes (notés N3) (Figure 87). En conséquence, ces molécules peuvent présenter une distribution de charges positives très variable en fonction du pH. Il est essentiel de connaître la charge cationique globale portée par chaque Trisamino-TrisK au pH physiologique 7.2 qui est utilisé pour les tests d'affinité et de sélectivité vis-à-vis des G-quadruplexes. Ne disposant pas d'appareillage de titration potentiométrique, nous avons estimé les pKas des différents azotes en nous basant d'une part sur des comparaisons avec des systèmes de structures proches connus et d'autre part sur les variations des spectres d'absorption UV-Vis et d'émission de fluorescence des composés en fonction du pH.

Par analogie avec la 9-aminoacridine (Figure 87) [154, 155], nous pouvons proposer des valeurs de pKa négatives pour les azotes de type N2. Ces amines aromatiques ne seront donc jamais protonées dans la gamme de pH explorée et *a fortiori* au pH physiologique.

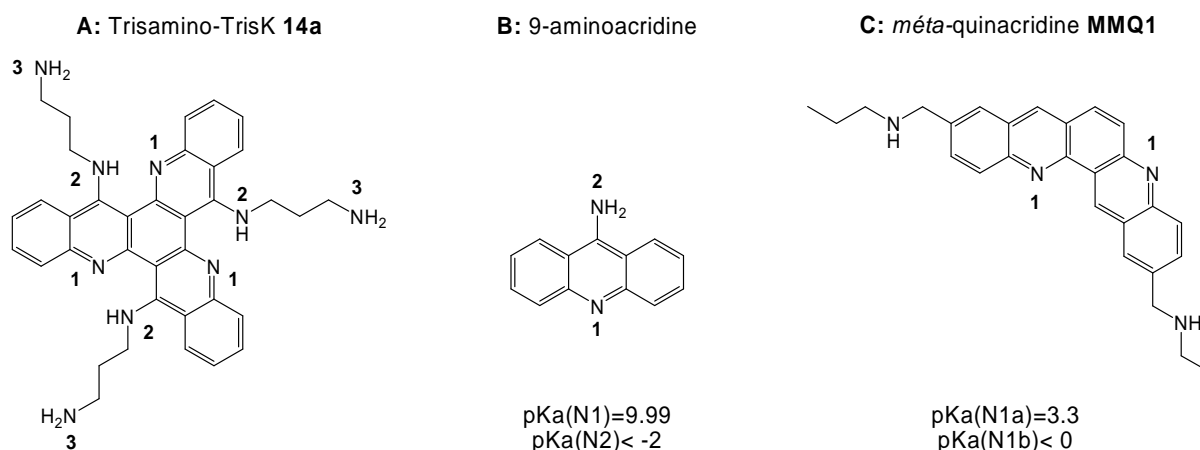


Figure 87. A: exemple du Trisamino-TrisK **14a** B : 9-aminoacridine C : *mé*ta-quinacridine **MMQ1** : numérotation arbitraire des azotes et pKas correspondants.

Nous avons ensuite étudié les variations d'absorbance et d'émission de fluorescence des Trisamino-TrisKs en fonction du pH afin d'estimer les pKas des azotes hétérocycliques N1. Le spectre d'absorption du TrisK **14a** présente de forts changements lors de l'augmentation progressive du pH de 1 à 5 (Figure 88): la bande principale à 335nm, attribuée aux transitions

π - π^* , diminue en intensité et est légèrement décalée vers les plus faibles longueurs d'onde (déplacement hypsochrome) et la bande de faible intensité à 440nm disparaît. Ces variations sont caractéristiques de la déprotonation des azotes intracycliques N1 [156-158]. Concernant l'émission de fluorescence, à pH 1 le spectre de **14a** présente une structure duale constituée d'une bande à 533 nm et d'une bande à 445 nm respectivement attribuables aux formes protonées et déprotonées du noyau aromatique TrisK. Cette structure signifie que les deux formes coexistent à pH 1. L'augmentation du pH de 1 à 5 induit une disparition de la bande d'émission à 533nm au profit d'une large bande à 427nm correspondant à la forme neutre du squelette. L'équilibre de déprotonation se traduit par un point isoémissif à 508 nm (Figure 88).

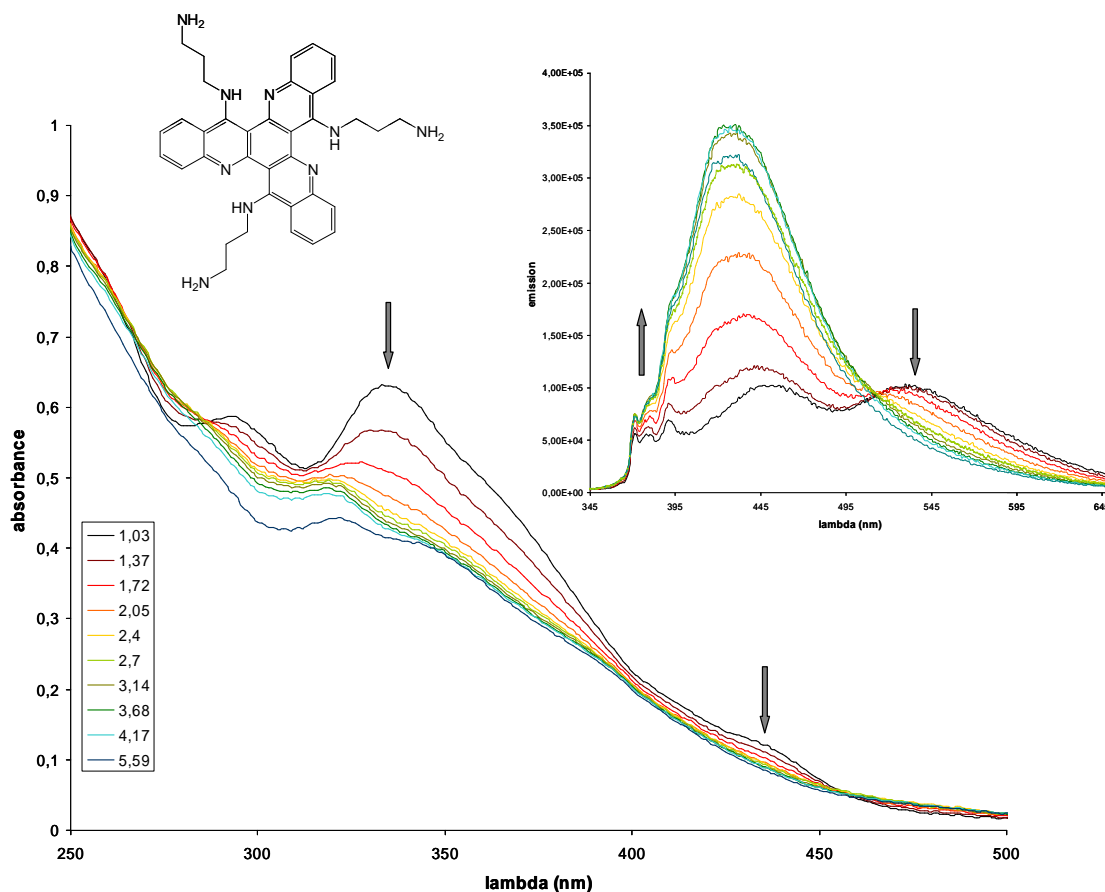


Figure 88. Spectres d'absorption UV-Vis et d'émission de fluorescence (en haut à droite, $\lambda_{exc}=335nm$) de **14a** (20 μ M) en solution aqueuse à pH croissant de 1.03 à 5.59.

Ces variations d'intensité d'absorbance et d'émission en fonction du pH sont représentées pour différentes longueurs d'onde (Figure 89).

Le point d'inflexion de chaque courbe donne une estimation du pKa des azotes intracycliques N1. Il peut également être calculé par l'équation suivante :

$pKa = pH - \log\left(\frac{A_a - A}{A - A_b}\right)$ où A_a est l'absorbance (ou intensité de fluorescence) de la molécule

à un pH où elle se trouve sous forme protonée, A_b l'absorbance (ou intensité de fluorescence) de la molécule à un pH où elle se trouve sous forme déprotonée et A l'absorbance (ou intensité de fluorescence) de la molécule à un pH intermédiaire choisi.

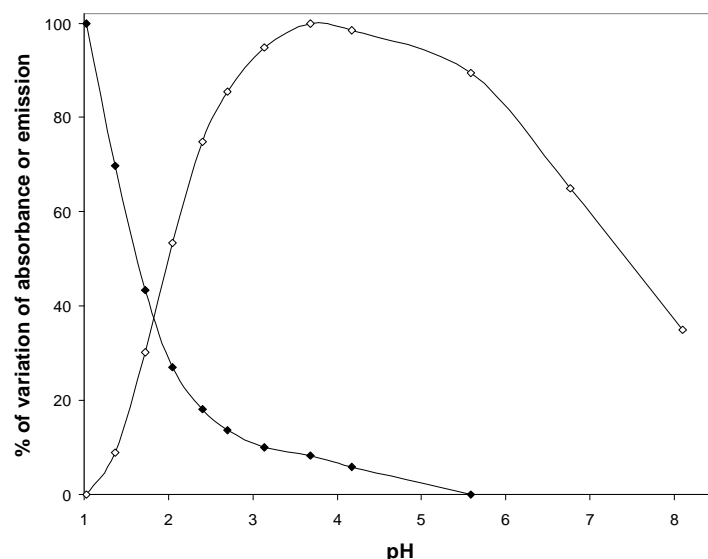


Figure 89. Variations normalisées de l'absorbance à 335nm (♦) et de l'intensité de fluorescence à 432nm (◇) de **14a** entre pH 1.2 et 5.59.

En moyennant les résultats obtenus par le calcul pour différentes valeurs de pH intermédiaire, on trouve $pKa(N1)=1.82$. Notons que les variations d'absorption avec le pH (utilisées pour ce calcul) sont représentatives des espèces à l'état fondamental.

Par analogie avec les valeurs déterminées pour la *méta*-quinacridine **MMQ1** (Figure 87) et pour la 1,7-phénantroline [156, 157] (Tableau 10), on peut envisager que deux des trois azotes N1 ont des pKa trop faibles pour être protonés à pH1. Il semble par ailleurs improbable que les variations spectroscopiques observées reflètent plusieurs équilibres de déprotonation. Celles-ci seraient donc représentatives de l'équilibre de déprotonation du troisième azote N1 du Trisamino-TrisK **14a**. La valeur calculée de 1.82 correspondrait au pKa de celui-ci.

Composé	pKa des azotes de type N1		
1,7-phénantroline (<i>m</i>)	0,75		4,3
MMQ1	<0		3,3
Trisamino-TrisK 14a	- ^a	- ^a	1,8

Tableau 10. Comparaison des pKa des azotes de type N1. ^a: valeurs non mesurables, <0 par analogie avec **MMQ1**.

La chute de pKa des azotes N1 dans les Trisamino-TrisK, entre une et deux unités, par rapport au **MMQ1** peut s'expliquer par la formation de liaisons hydrogènes intramoléculaires autour du squelette aromatique comme le montre la Figure 90. Ce type de liaisons a déjà été observé dans les systèmes 2-aminophénylpyridine ou 2-hydroxyphénylpyridine [159, 160] et dans les dérivés de méridine [161]. Ainsi, les protonations des azotes intracycliques N1 et des amines aromatiques N2 seraient défavorisées par des facteurs stériques (désorganisation du cycle à six chaînons formé par cette liaison hydrogène, Figure 90) et électroniques (diminution du pKa dû aux liaisons H, [162-165]).

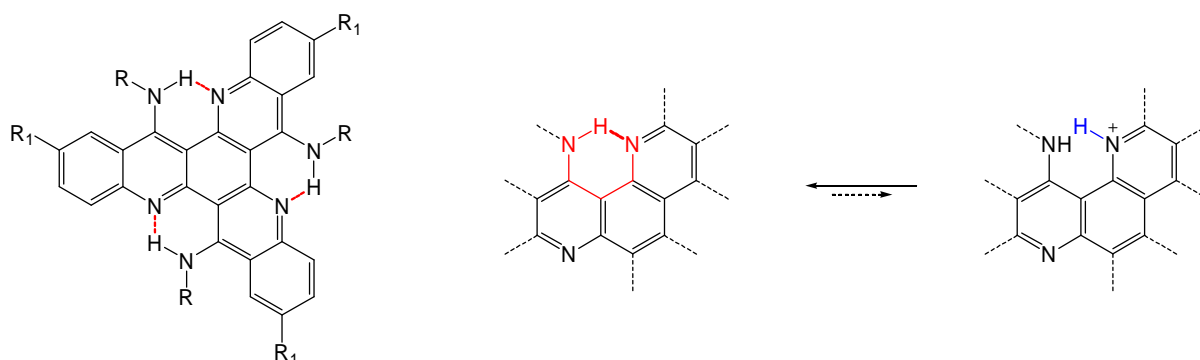


Figure 90. Liaisons Hydrogènes (pointillés rouges) sur le squelette aromatique des Trisamino-TrisK et conséquences sur la protonation des azotes N1 et N2.

Dans une gamme de pH entre 6 et 8, l'intensité de fluorescence du composé **14a** diminue sans modification de la forme des spectres (Figure 89). Ces variations pourraient résulter de la déprotonation des chaînes latérales qui entraîne un effet de quench par transfert d'électrons photoinduit. Cependant, étant donné notre système triple complexe, nous ne pouvons pas déterminer des valeurs précises de pKa pour ces amines terminales N3. Par analogie avec les valeurs de la littérature et celles proposées pour les dérivés de quinacridines [92, 166], le pKa des amines libres terminales (pour **13a-b** et **14a-b**) peut être estimé entre 10.0 et 10.9 et celui des diméthyl-amines terminales (pour **11a-b** et **12a-b**) entre 9.5 et 10.2.

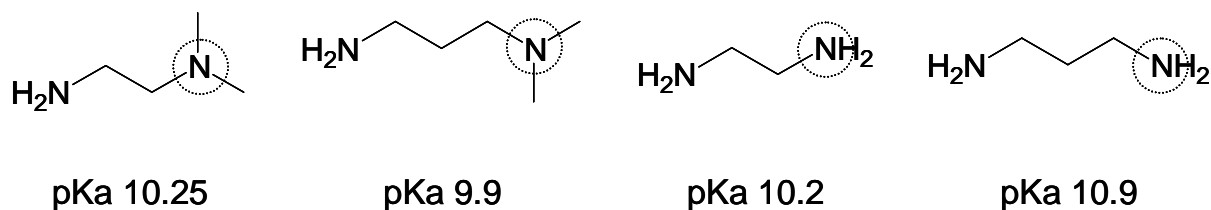


Figure 91. Valeurs de pKa des amines libres considérées.

Ces études permettent donc de proposer les états de charge cationique globale suivants pour les Trisamino-TrisKs à pH physiologique 7.2 : **9b** et **10a-b** ne sont pas chargés tandis que **11a-b**, **12a-b**, **13a-b** et **14a-b** portent trois charges sur les amines terminales.

Cette valeur de trois charges positives semble un bon intermédiaire et laisse envisager un bon compromis affinité vs sélectivité pour les structures G-quadruplexes.

I.4. Interaction des Trisamino-TrisKs avec les G-quadruplexes formés par la séquence télomérique humaine.

I.4.1. Affinité pour l'ADN G-quadruplexe.

L'affinité des onze Trisamino-TrisKs **9-14 a-b** a tout d'abord été évaluée par le test de dénaturation thermique suivie par FRET (FRET-melting, voir Introduction III.3.2) [150]. Ces études ont été menées en conditions riches en sodium ou en potassium. Les résultats étant sensiblement identiques dans les deux cas, seules les valeurs obtenues en sodium sont présentées ici (les résultats en potassium sont disponibles en annexe A). Le TrisK portant des chaînes propylamines **9b** ne stabilise pas le G-quadruplexe. De la même manière les TrisKs **10a-b** 2-méthoxy-éthylamine n'induisent aucune stabilisation de cette structure. Comme déterminé au paragraphe précédent, ces composés ne sont pas chargés à pH physiologique et sont donc moins enclins à interagir avec les G-quadruplexes. La présence d'amines terminales protonables semble donc essentielle.

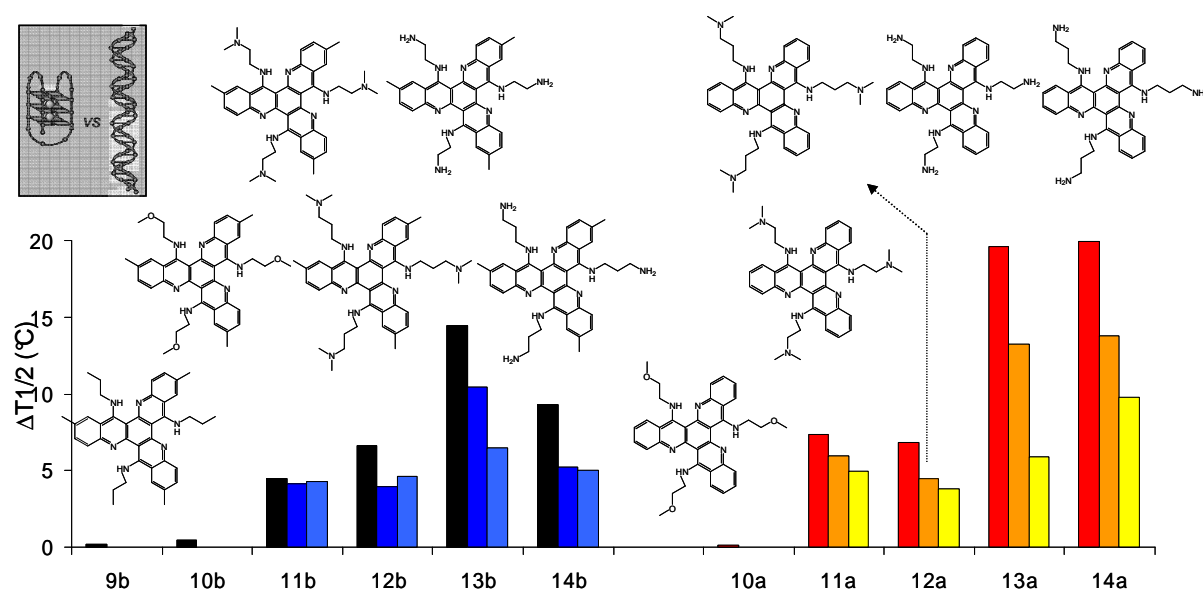


Figure 92. Résultats de FRET-melting pour les Trisamino-TrisK **9-14 a-b**. Conditions expérimentales : 0.2μM F21T, 1μM ligand, sans (barres noires et rouges), avec 3μM (barres bleues foncées et oranges) et 10μM (barres bleues claires et jaunes) ds26, tampon cacodylate de lithium 10mM, 100mM NaCl, pH 7.2.

Les résultats de FRET-melting des TrisKs **11-14 a-b** confirment la meilleure aptitude de ces ligands à interagir avec le G-quadruplexe (Figure 92 et Tableau 11). Les stabilisations obtenues avec les composés portant des groupements terminaux N,N-diméthylamine (**11a**, **11b**, **12a**, **12b**, $\Delta T_{1/2} = 7.3, 4.4, 6.8$ et 6.6° respectivement) sont moins conséquentes que dans le cas d'amines libres terminales (**13a**, **13b**, **14a**, **14b**, $\Delta T_{1/2} = 19.6, 14.4, 19.9$ et 9.3° respectivement). Ces résultats confirment d'une part que les charges positives introduites par ces groupements amines terminales favorisent l'interaction du ligand avec le G-quadruplexe. Elles doivent introduire des interactions électrostatiques stabilisantes avec les sillons du G-quadruplexe, possédant un caractère électronégatif [92]. Ils suggèrent d'autre part une contribution de liaisons hydrogène entre ces amines terminales et les sillons du G-quadruplexe dans le mode d'interaction de ces ligands. Ainsi, avec leur caractère donneur de liaisons hydrogène et leur contribution aux interactions électrostatiques, les amines libres terminales semblent jouer un rôle primordial dans la stabilisation de l'ADN G-quadruplexe par les Trisamino-TrisKs.

	9b	10b	11b	12b	13b	14b	10a	11a	12a	13a	14a
$\Delta T_{1/2}$ (°C) ^a	0.2	0.5	4.5	6.6	14.4	9.2	0.2	7.4	6.8	19.6	19.9
$\Delta T_{1/2}$ (3 μ M) (°C)	- ^b	-	4.1	3.9	10.4	5.2	-	5.9	4.5	13.3	13.8
$\Delta T_{1/2}$ (10 μ M) (°C)	-	-	4.2	4.5	6.5	5.0	-	4.9	3.8	5.9	9.8
S_3 ^c	-	-	0.92	0.59	0.72	0.56	-	0.80	0.65	0.67	0.69
S_{10}	-	-	0.95	0.68	0.45	0.53	-	0.67	0.55	0.30	0.49

Tableau 11. Résultats de FRET-melting pour les Trisamino-TrisK **9-14 a-b**. ^a erreurs expérimentales estimées à $\pm 0.1^\circ\text{C}$, ^b non déterminé (car $\Delta T_{1/2}(\text{sans ds26}) < 3^\circ\text{C}$), ^c coefficients de sélectivité définis comme : $S_3 = \Delta T_{1/2}(+3\mu\text{M ds26}) / \Delta T_{1/2}(\text{sans ds26})$ et $S_{10} = \Delta T_{1/2}(+10\mu\text{M ds26}) / \Delta T_{1/2}(\text{sans ds26})$.

De manière générale, les résultats de FRET-melting obtenus avec les Trisamino-TrisKs présentant trois hydrogènes en périphérie du cœur aromatique ($R_1 = -\text{H}$, série **a**) sont meilleurs que ceux donnés par les ligands présentant trois méthyles supplémentaires sur le squelette aromatique ($R_1 = -\text{CH}_3$, série **b**). Les composés de la série **a** présentent vraisemblablement une meilleure aptitude de stacking que ceux de la série **b**. Les méthyles supplémentaires portés par ces derniers peuvent en effet diminuer l'efficacité du π -stacking avec le G-quartet par des effets stériques (et électroniques).

Enfin, dans la série **b**, une longueur de chaîne de deux carbones semble être la mieux adaptée pour une bonne interaction avec le G-quadruplexe (**13b**, **14b**). En revanche, cet effet de chaîne n'est pas observé dans la série **a** (**13a** et **14a**).

I.4.2. Evaluation de la sélectivité

La sélectivité G-quadruplexe vs duplexe d'ADN des Trisamino-TrisKs a été évaluée par dénaturation thermique suivie par FRET, les tests ayant cette fois-ci été réalisés en présence de duplexe compétiteur (ds26, de séquence auto complémentaire d[CA₂TCG₂ATCGA₂T₂CGAT-C₂GAT₂G], 3 et 10 μ M soit 15 et 50 équivalents (exprimés en concentration en brin)). Notons que les ligands **9b**, **10a** et **10b** n'ont pas été évalués ici en raison de leur stabilisation trop faible du G-quadruplexe en absence de compétiteur ($\Delta T_{1/2} < 3^\circ\text{C}$). L'ajout de 15 ou 50 équivalents de duplexe ds26 altère la stabilisation du G-quadruplexe avec une amplitude dépendante de la nature du ligand (Figure 92). La sélectivité G-quadruplexe vs duplexe est ensuite exprimée par un rapport variant de 0 à 1 tel que défini en introduction au §III.3.2. Dans le cas des Trisamino-TrisKs (Tableau 11), les dérivés à chaînes diméthylamines **11a-b** et **12a-b**, présentant une stabilisation modérée, révèlent d'intéressantes propriétés de sélectivité (S_3 et S_{10} étant comprises entre 0.55 et 0.95). Les

composés présentant une meilleure stabilisation s'avèrent en contre partie moins sélectifs comme le montre l'exemple de **13a** : $S_3=0.67$, $S_{10}=0.30$. Cependant, le Trisamino-TrisK **14a** apparaît comme le ligand le plus intéressant de cette série avec une très bonne affinité ($\Delta T_{1/2}=19.9^\circ$) et une sélectivité relativement élevée ($S_3=0.69$, $S_{10}=0.49$) (Tableau 11).

Le mode d'interaction proposé pour les ligands **9-14** repose sur un recouvrement important des quartets externes du G-quadruplexe auquel s'ajoute une interaction stabilisante faisant intervenir les groupements terminaux des chaînes latérales (contributions électrostatiques et caractère donneur de liaison hydrogène). Nous nous sommes alors demandés quelle influence avaient la présence et la nature des boucles au voisinage des quartets accessibles sur l'affinité de ces ligands [97]. Pour cela, des expériences de FRET-melting utilisant un quadruplexe tétramoléculaire $[d(TG_5T)]_4$ comme compétiteur ont été menées. Ce quadruplexe tétramoléculaire est parfaitement adapté pour évaluer l'importance des boucles dans le mode de fixation d'un ligand. En effet, ce dernier ne présentant aucune boucle, la compétition avec l'oligonucléotide F21T n'intervient que dans la reconnaissance des quartets et des sillons des quadruplexes. Ici encore, les dérivés **9a** et **10a-b** n'ont pas été évalués en raison de leur trop faible stabilisation du G-quadruplexe. Avec les dérivés **11-14 a-b**, l'ajout de 1 à 10 μM (de 5 à 50 équiv.) de G-quadruplexe tétramoléculaire entraîne une très forte diminution de la stabilisation de F21T (Figure 93). Cette diminution est particulièrement marquée dans le cas des dérivés portant des groupements terminaux amine tertiaire **11a-b** et **12a-b** (40-60% pour 1 μM $[d(TG_5T)]_4$, 60-90% pour 3 μM $[d(TG_5T)]_4$ et 80-100% pour 10 μM $[d(TG_5T)]_4$). Les composés présentant des amines primaires terminales **13a-b** et **14a-b** opposent une résistance à la compétition plus marquée (la stabilisation chute de 15-50% pour 1 μM $[d(TG_5T)]_4$, de 40-60% pour 3 μM $[d(TG_5T)]_4$ et de 60-80% pour 10 μM $[d(TG_5T)]_4$). Les fonctions amines terminales peuvent en effet créer des liaisons hydrogène avec des groupements environnants, comme nous l'avons déjà évoqué. Il est possible que ces composés aient une plus forte affinité pour les G-quadruplexes présentant des sillons et des boucles (ici F21T), induisant un plus grand nombre de possibilités pour ces liaisons de se former. Cependant, la très faible résistance globale à la compétition des Trisamino-TrisK confirme que leur mode de fixation est principalement gouverné par l'interaction de π -stacking avec les G-quartets, contrairement au ligand **NCQ** par exemple, qui lui est coiffé par les charges positives (Figure 94) [97]. Une longueur de chaînes latérales de deux à trois carbones ne semble donc pas suffisante pour introduire une interaction supplémentaire avec les boucles du G-quadruplexe.

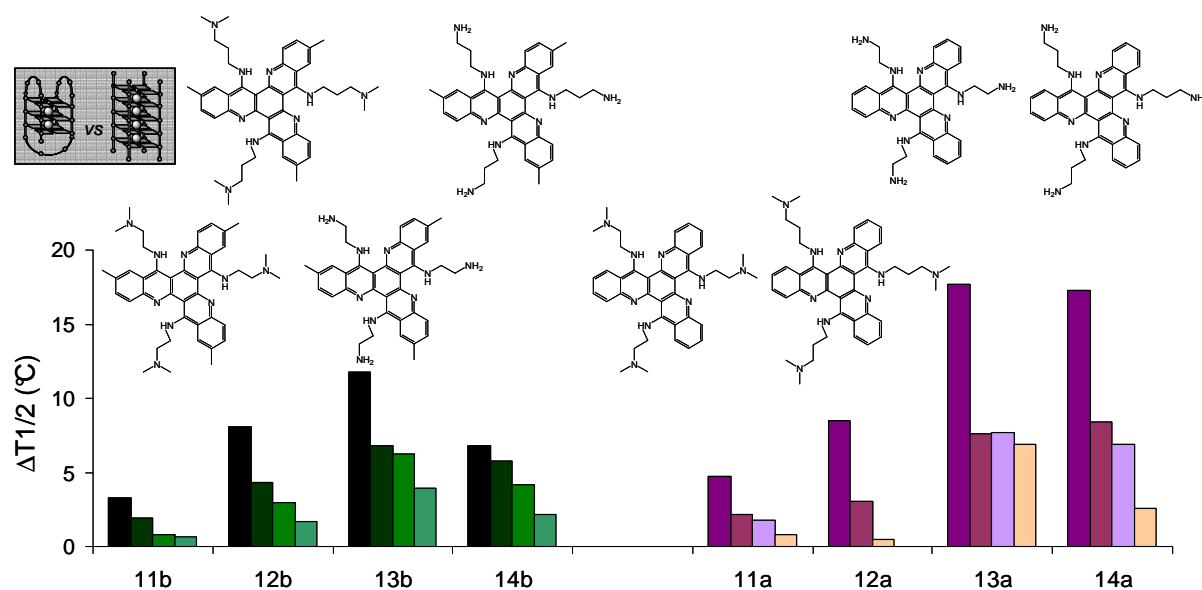


Figure 93. Résultats de FRET-melting pour les Trisamino-TrisK **11-14 a-b**. Conditions expérimentales : 0.2 μM F21T, 1 μM ligand, sans (barres noires et violettes), avec 1 μM (barres vertes foncées et violet clair), 3 μM (barres vertes et jaunes) et 10 μM (barres vert d'eau et saumon) [d(TG₅T)]₄, tampon cacodylate de lithium 10mM, 100mM NaCl, pH 7.2.

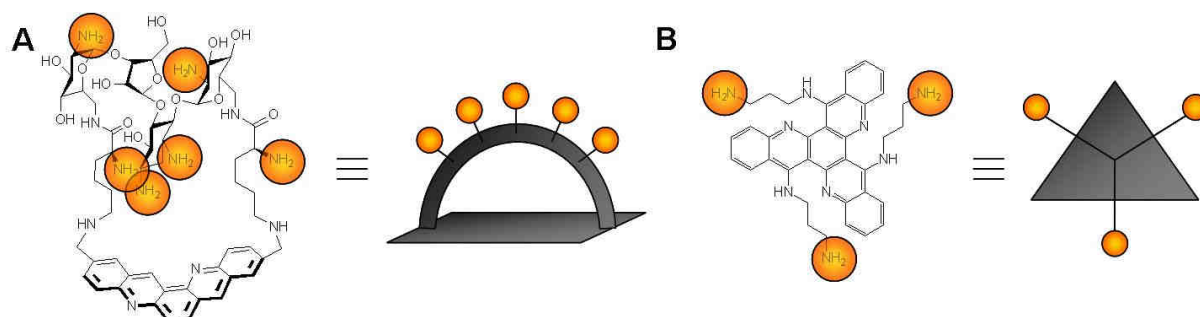


Figure 94. Structures chimiques et schématisation du NCQ (A) et du Trisamino-TrisK **14a** (B).

Ces études d'affinité et de sélectivité ont été complétées par des mesures en test G4-FID (voir introduction, §III.3.2) sur les ligands **13a** et **14a** donnant les résultats les plus intéressants en test de FRET-melting. Deux matrices G-quadruplexes ont été utilisées : l'oligonucléotide 22AG (dérivé de la séquence télomérique humaine) en conditions sodium et le TBA (Thrombin Binding Aptamer, un G-quadruplexe ne présentant pas de polymorphisme) en conditions potassium. Les résultats obtenus avec le 22AG en conditions potassium sont disponibles en annexe B. Les TrisKs **13a** et **14a** déplacent efficacement le thiazole orange (TO) des deux matrices G-quadruplexes, avec des G^4DC_{50} (présentés Tableau 12) compris entre 0.21 et 0.31 μM indiquant une forte affinité (Figure 95). Ces valeurs tout à fait comparables pour ces deux structures démontrent à nouveau un mode d'interaction dirigé par la reconnaissance des G-quartets. En effet, l'environnement de ces derniers, bien que différent

dans le 22AG (en sodium) [46] et dans le TBA [38, 167], n'a aucune incidence sur l'affinité de ces ligands.

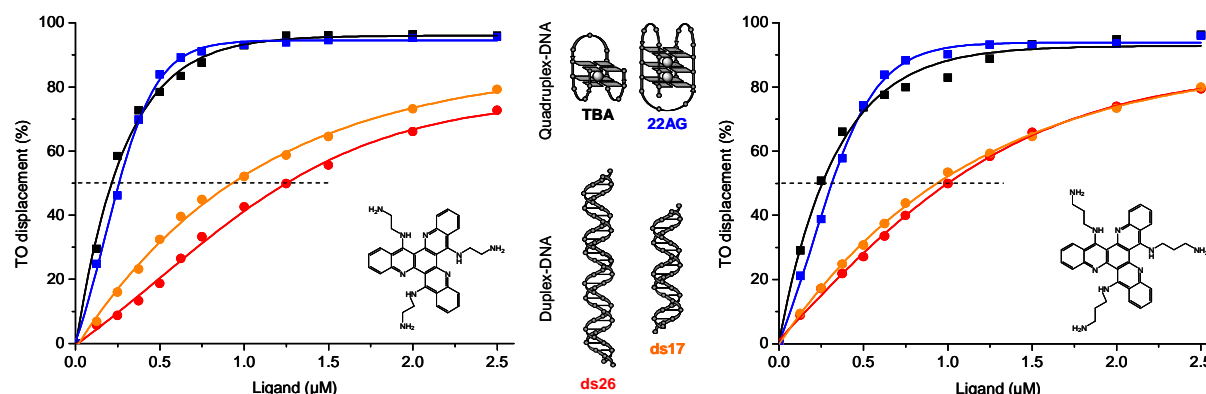


Figure 95. Résultats du test G4-FID pour les TrisK **13a** (gauche) et **14a** (droite). Conditions expérimentales : 0.5μM TO pour TBA, 22AG et ds17 et 0.75μM TO pour ds26, 0.25μM ADN et concentration croissante de ligand (de 0 à 10équiv.), tampon cacodylate de sodium 10mM, 100mM NaCl (22AG) ou 100mM KCl (TBA, ds17, ds26), pH 7.4. Courbe bleue : 22AG ; courbe noire : TBA ; courbe orange : ds17 et courbe rouge : ds26.

Les ligands **13a** et **14a** induisent un déplacement du TO moins efficace à partir des matrices duplexes ds17 et ds26 (Figure 95) ($^{ds}DC_{50}$ compris entre 0.93 et 1.26μM). Les paramètres de sélectivité obtenus, compris entre 3.1 et 6.0 (Tableau 12), indiquent au même titre que les tests de FRET-melting une sélectivité satisfaisante des composés **13a** et **14a** pour les structures G-quadruplexes.

	G^4DC_{50} (μM)		$^{ds}DC_{50}$ (μM)		Sélectivité ^a			
	TBA	22AG	ds17	Ds26	TBA/ds17	TBA/ds26	22AG/ds17	22AG/ds26
13a	0.21	0.26	0.93	1.26	4.4	6.0	3.6	4.8
14a	0.26	0.31	0.95	1.01	3.6	3.9	3.1	3.2

Tableau 12. Résultats des tests G4-FID pour les TrisKs **13a** et **14a**. Erreurs expérimentales estimées à ±5%. ^a Sélectivité = $^{ds}DC_{50}/G^4DC_{50}$.

Nous avons enfin réalisé des études de dichroïsme circulaire (CD) sur l'oligonucléotide 22AG en présence de **13a** ou de **14a**. Bien qu'à aborder avec prudence, cette technique (§III.3.1, [10, 139]) permet de suivre les modifications structurales d'un G-quadruplexe induites par un ligand, phénomène fréquemment observé avec des molécules très affines [168-170]. Ces études nous permettent donc de déterminer si l'interaction 22AG/TrisKs les plus affins (**13a** et **14a**) entraîne un changement dans la structure G-quadruplexe. L'oligonucléotide 22AG a été structuré dans des conditions riches en ions sodium ou en potassium. Les ions sodium

favorisent la formation d'une structure dite antiparallèle (du fait de l'alternance de la polarité des brins qui la composent) dont la signature caractéristique en CD présente un maximum positif à 295nm et un maximum négatif à 264nm (Figure 96A courbe noire). En conditions potassium, en revanche, une structure dite hybride présentant à la fois des caractéristiques de structures parallèle et antiparallèle est prépondérante, présentant en CD un maximum positif à 295nm, un épaulement à 268nm et un maximum négatif vers 240nm (non montré ici) (Figure 96B courbe noire). Les résultats étant similaires pour les deux TrisKs **13a** et **14a**, seules les courbes obtenues avec **14a** sont présentées ici (celles obtenues avec **13a** sont proposées en annexe C). L'ajout de quantités croissantes de ligand **13a** ou **14a** ne modifie en rien le signal CD de la structure antiparallèle obtenue en sodium (Figure 96A) tandis que le signal de la forme hybride en potassium est converti en un signal caractéristique d'une structure antiparallèle (Figure 96B). Dans ce dernier cas, l'interaction des ligands est donc assez forte pour déplacer l'équilibre existant entre les différentes formes G-quadruplexe vers un unique complexe ligand/G-quadruplexe présentant des signaux caractéristiques des structures antiparallèles. Celui-ci correspond à un complexe cinétique, comme observé avec bon nombre de ligands de quadruplexe efficaces comme le 360A [107, 116, 171].

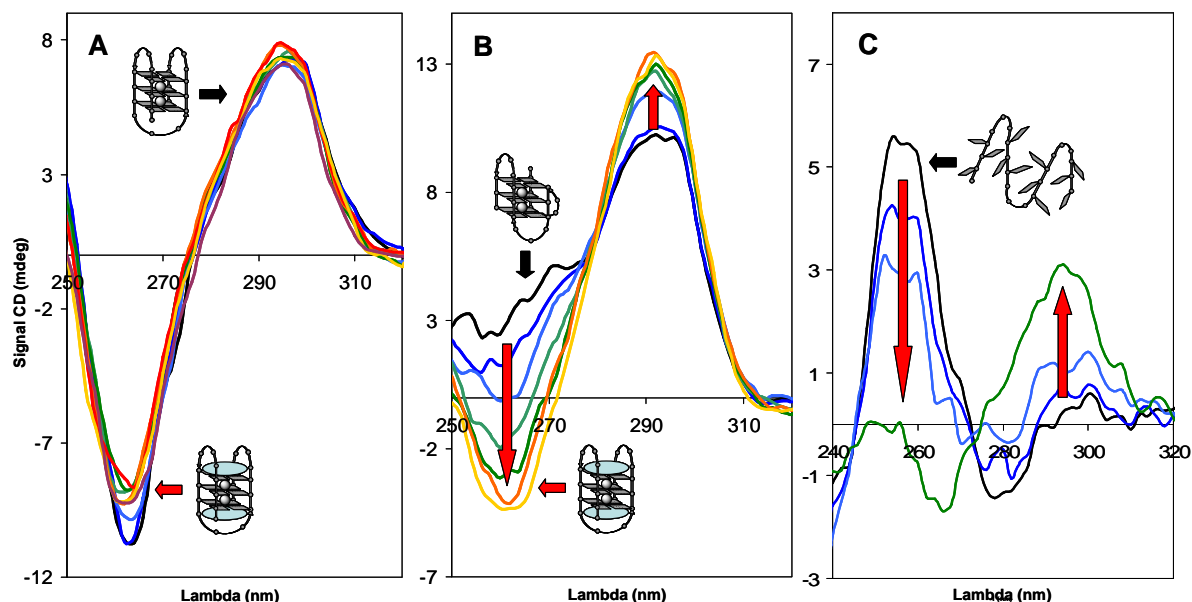


Figure 96. Etudes de dichroïsme circulaire avec le TrisK **14a**. Conditions expérimentales : 3 μ M G-quadruplexe 22AG, tampon cacodylate de sodium 10mM, 100mM NaCl (A) ou 100mM KCl (B), ou 3 μ M 22AG déstructuré, tampon TrisHCl 10mM (C) avec concentrations croissantes de **14a** (0 (noir), 0.5 (bleu foncé), 1.0 (bleu clair), 1.5 (vert clair), 2.0 (vert foncé), 2.5 (orange) et 4.0 μ equiv (jaune) pour A et B et 0 (noir), 1.0 (bleu foncé), 2.0 (bleu clair) et 4.0 (vert) pour C).

Nous avons enfin examiné si les ligands **13a** et **14a** pouvaient induire une structure G-quadruplexe en absence de cations. Partant de l'oligonucléotide non structuré (repliement aléatoire, un maximum à 257nm en CD, Figure 96C courbe noire), des quantités croissantes de ligand sont ajoutées. Comme le montre la Figure 96C, l'interaction avec le ligand modifie le signal rapidement faisant apparaître un point isoelliptique à 272nm. Cependant, le signal apparaissant à 290nm est relativement faible, ce qui indique que l'interaction n'est pas assez forte pour déplacer notablement l'équilibre entre la forme déstructurée et le G-quadruplexe (seule une fraction est convertie).

De manière générale, les observations fournies par les études FRET-melting, G4-FID et CD corroborent l'hypothèse d'une interaction gouvernée par la reconnaissance des G-quartets. Les amines terminales utilisées ici participent à cette fixation en introduisant des interactions stabilisantes supplémentaires une fois le ligand empilé sur le G-quartet.

I.5. Conclusions

Dans ce paragraphe, nous avons développé une nouvelle famille de ligands de symétrie C_{3h} , les Trisamino-TrisKs et étudié leurs interactions avec les structures G-quadruplexes. Les dérivés portant des amines terminales sur les chaînes latérales ont démontré une forte affinité pour les G-quadruplexes et une sélectivité correcte pour ces structures. Ces résultats confirment le potentiel des ligands de symétrie ternaire peu développés jusqu'à présent. La rationalisation des résultats obtenus n'est cependant pas aisée. La comparaison de ces derniers avec les quinacridines, modèle initial à deux branches, ne montre pas ici d'optimisation marquante. Afin de valider notre système et de réaliser une comparaison pertinente avec les quinacridines, le développement des TrisK à chaînes benzyliques est à poursuivre.

Le mode de fixation des Trisamino-TrisKs est gouverné par un recouvrement avec les G-quartets auquel s'ajoutent des interactions secondaires stabilisantes des amines avec les sillons du G-quadruplexe. Cette étude souligne l'importance de ces chaînes latérales. En effet, les chaînes courtes (deux ou trois carbones) utilisées ici ne permettent pas l'établissement d'interactions supplémentaires avec les boucles du G-quadruplexe qui offriraient la possibilité d'atteindre une sélectivité intra-G-quadruplexes. La rapidité et la facilité de synthèse de ces Trisamino-TrisKs permettent d'envisager aisément l'introduction de nouvelles fonctionnalités (groupements glycosides par exemple) sur ce squelette aromatique allant dans ce sens ; la viabilité de cette approche ayant été démontrée dans de récentes études [97, 99, 103]. Nous envisageons également la synthèse d'un dérivé coiffé par une chaîne aminée (Figure 97).

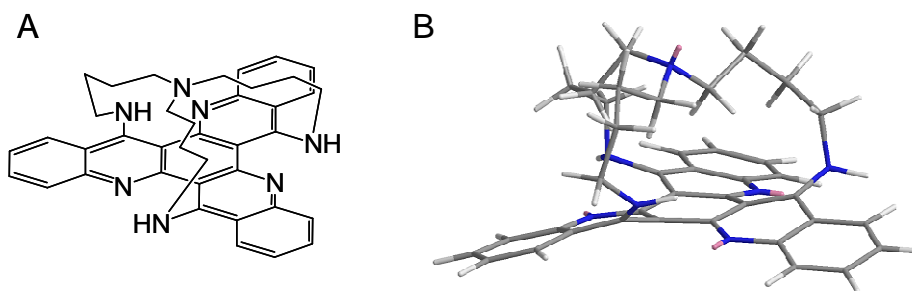


Figure 97. A. Structure du Trisamino-TrisK coiffé envisagé et B. minimisation énergétique (MM2)

II. Ligand de symétrie C_{3h} intrinsèquement cationique : Trisquinolizinium TrisQ

Parallèlement aux Trisamino-TrisK précédemment décrits, nous avons entrepris d'introduire des charges positives directement intégrées dans le squelette aromatique. Deux stratégies ont été envisagées. La première consiste à métyler les azotes intracycliques du squelette TrisK (Figure 98A). Celle-ci s'est cependant avérée très rapidement impossible à contrôler. La méthylation réalisée dans différentes conditions (triméthylloxonium-tétrafluoroborate ou trifluorométhanesulfonate de méthyle) conduit en effet invariablement à des mélanges (produits mono et bis-méthylés). Une séparation par HPLC est envisageable mais les conditions sont à mettre au point. Nous nous sommes donc tournés vers la synthèse d'un dérivé quinolizinium avec les azotes en jonctions de cycles, le 4a,10a,16a-triazoniatriinaphthylene ou TrisQ (Figure 98B).

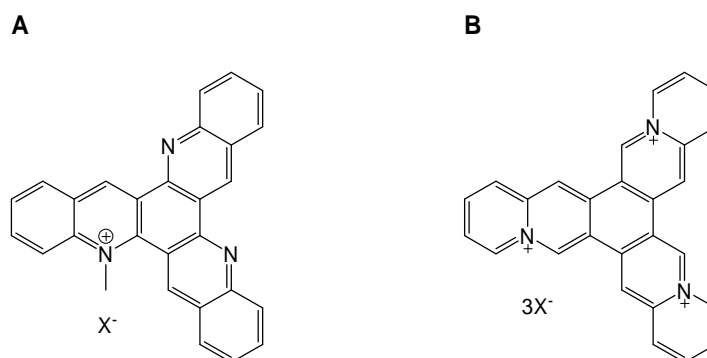


Figure 98. Structures chimiques d'un TrisK N-méthylé (A) et du dérivé quinolizinium TrisQ (B).

II.1. Synthèse du Trisquinolizinium TrisQ

La synthèse du Trisquinolizinium TrisQ suit un protocole en quatre étapes (Schéma 11) inspiré des travaux réalisés dans le groupe de H. Ihmels [172] et des précédentes études sur les quinoliziniums [173]. La 2-carboxyaldéhyde-pyridine est tout d'abord protégée sous la forme d'un acétal par réaction avec l'éthylèneglycol. La 2-(1,3-dioxalan-2-yl)-pyridine **15** ainsi obtenue est ensuite condensée sur le 1,3,5-tris-bromométhyl-benzène par réaction dans la N-méthyl-morpholine pendant deux semaines à température ambiante. Les contre-ions bromure sont échangés par des ions hexafluorophosphates, fournissant le composé **16** avec un très bon rendement. La cyclisation de l'intermédiaire **16** par chauffage à 210°C dans l'acide méthanesulfonique pendant trois jours permet l'obtention du TrisQ **17a** (notons que cette dernière réaction ne fonctionne pas dans l'acide polyphosphorique et que l'utilisation de l'acide méthanesulfonique est un échec si les contre-ions de l'intermédiaire **16** sont des tétrafluoroborates). Le TrisQ **17a** est isolé avec un très bon rendement global de 47% et un haut degré de pureté par précipitation dans un mélange acétonitrile/eau. Il possède alors des contre-ions PF_6^- . Pour étudier une éventuelle influence de ces derniers, le TrisQ **17b** présentant des contre-ions BF_4^- a également été synthétisé (échange d'ions à partir de **17a**).

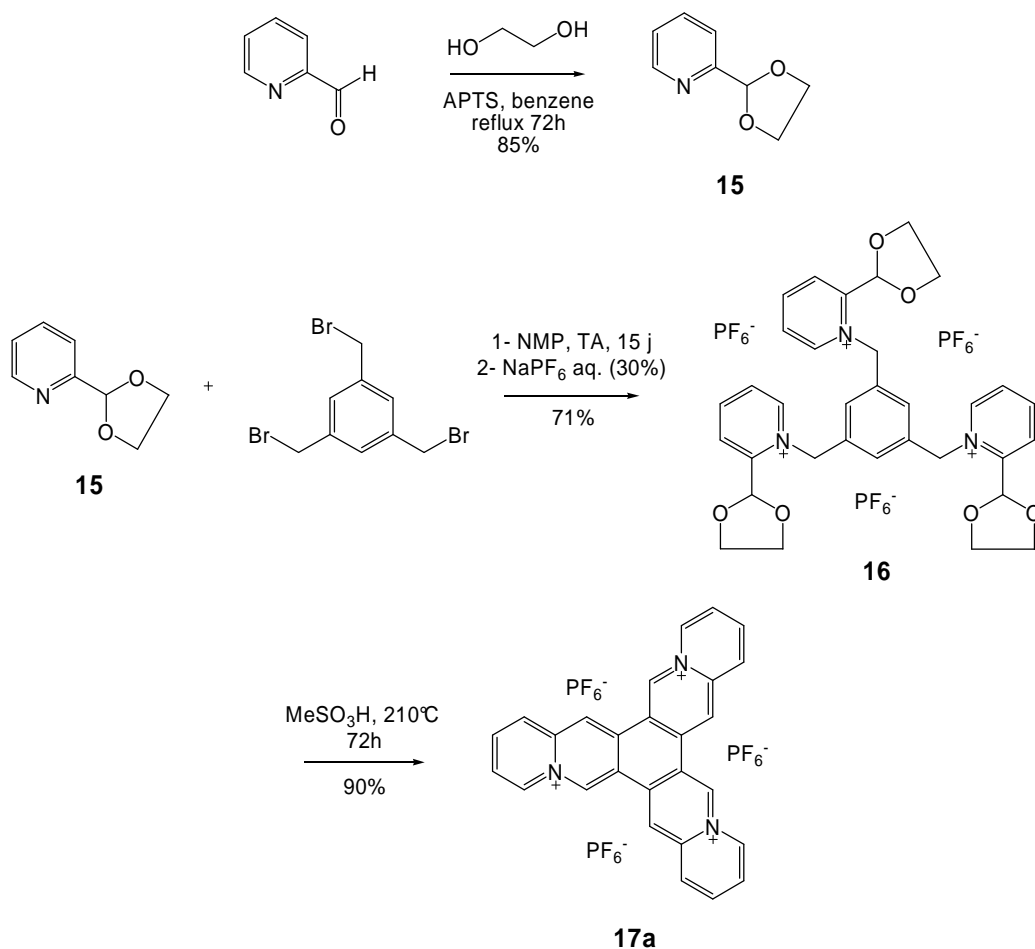


Schéma 11. Synthèse du Trisquinolizinium tris-hexafluorophosphate **17a**.

II.2. Structure cristallographique

Des cristaux du TrisQ **17b** ont été obtenus par cristallisation dans un mélange acétonitrile/eau, nous permettant de déterminer sa structure cristallographique. La maille cristalline comprend une molécule de **17b** et une molécule d'eau, correspondant à la formule $C_{27}H_{18}N_3 \cdot 3(BF_4) \cdot H_2O$, et appartient au groupe d'espace $P2_12_12_1$. La représentation ORTEP (Figure 99) révèle la quasi-planéité de la molécule. Dans la maille cristalline, les molécules sont disposées en zig-zag (ou chevrons) (Figure 100). Contrairement à d'autres dérivés acridizinium (4a,14a-diazoniaanthra[1,2-a]anthracene [174] par exemple), aucune interaction de π -stacking entre cœurs aromatiques n'est visible. Ceci est peut être dû à des répulsions électrostatiques plus importantes entre les cœurs tricationiques ou à l'encombrement stérique des contre-ions.

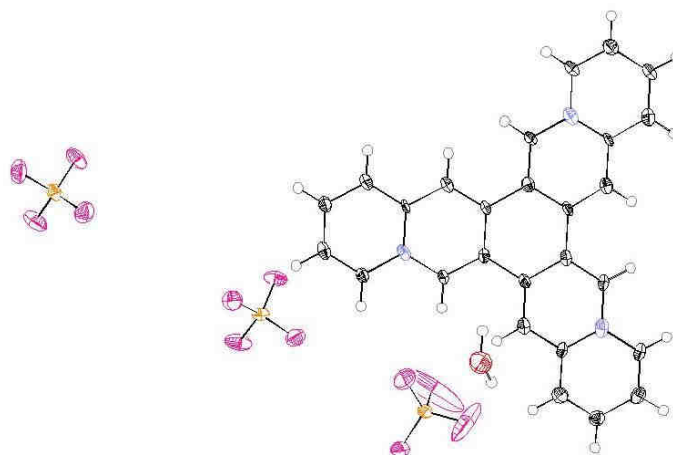


Figure 99. Représentation ORTEP du TrisQ **17b**.

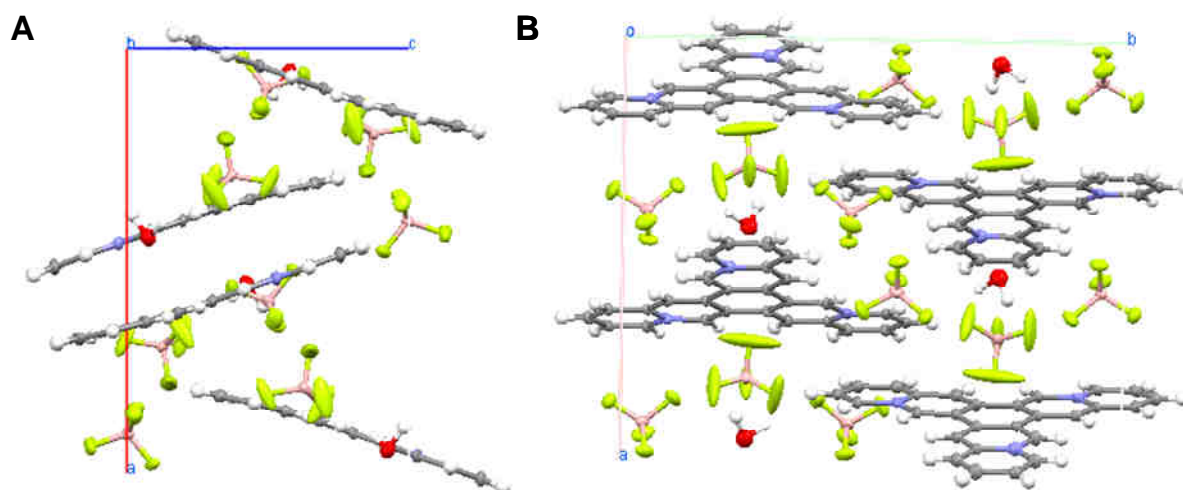


Figure 100. Maille cristalline de **17b**, selon les directions b et c de la maille.

II.3. Interaction du Trisquinolizinium TrisQ avec les G-quadruplexes dérivés de la séquence télomérique humaine.

II.3.1. Affinité pour les G-quadruplexes.

L'affinité des TrisQ **17a-b** a été évaluée par FRET-melting. Les résultats étant identiques quelle que soit la nature des contre-ions associés au TrisQ (qui n'influencent pas non plus sa solubilité), seuls ceux obtenus avec **17a** seront présentés. Les expériences de FRET-melting ont été réalisées en présence d'ions sodium ou d'ions potassium. Les résultats FRET en conditions sodium (Figure 101A) révèlent l'aptitude de **17a** à interagir avec le G-quadruplexe avec une affinité modérée ($\Delta T_{1/2}=10.2^{\circ}\text{C}$). Les résultats en conditions potassium sont ici très différents, le TrisQ **17a** présentant dans ce cas une très forte affinité de $\Delta T_{1/2}=26.2^{\circ}\text{C}$ (Figure

101 A et B). De telles différences dans les résultats obtenus en présence d'ions sodium ou de potassium n'ont pas été observées avec les Trisamino TrisKs **13a** et **14a**. En revanche, elles ont déjà été mises en évidence avec le **BRACO-19** par exemple [175]. Les stabilisations obtenues sont en général plus faibles en sodium qu'en potassium. Ce phénomène n'est pas encore expliqué, on peut cependant envisager que ces ligands ont une préférence pour certains repliements formés de manière prépondérante en présence d'ions potassium (forme hybride par exemple).

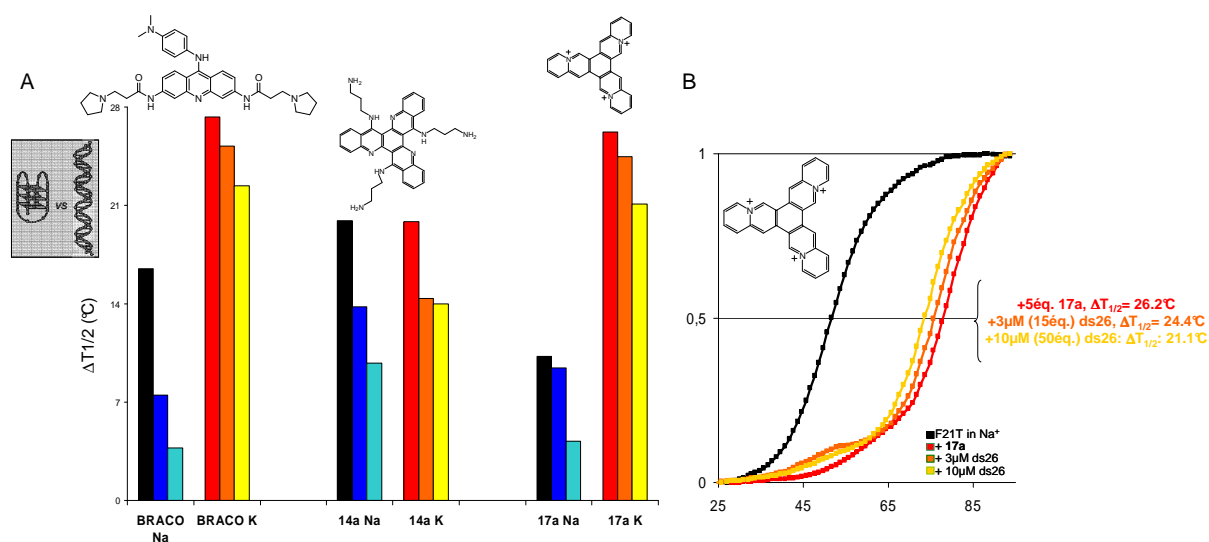


Figure 101. A. Résultats de FRET-melting pour le TrisQ **17a** comparé aux ligands **BRACO-19** et **14a** en conditions sodium et potassium. Conditions expérimentales : 0.2 μM F21T, 1 μM ligand, sans (barres noires et rouges), avec 3 μM (barres bleues foncées et oranges) et 10 μM (barres bleues claires et jaunes) ds26, tampon cacodylate de lithium 10mM, 100mM NaCl (barres noires et bleues) ou 90mM LiCl/10mM KCl (barres rouges, oranges et jaunes), pH 7.2. **B.** Courbes FRET obtenues pour **17a** en présence d'ions potassium dans les mêmes conditions expérimentales (même code de couleur).

II.3.2. Sélectivité pour les G-quadruplexes.

Le gain d'affinité en présence d'ions potassium précédemment observé s'accompagne également d'un fort gain en sélectivité, comme le montrent les résultats en FRET-melting compétitif. En effet, les valeurs de sélectivité obtenues en présence de 15 équivalents de duplexe compétiteur (soit 3 μM) sont identiques en sodium et en potassium ($S_3 = 0.92$ et 0.93 respectivement), mais la sélectivité observée à 10 μM de duplexe ds26 est bien meilleure en conditions potassium (0.80 en potassium contre 0.41 en sodium) (Tableau 13).

L'ensemble de ces données démontre le fort potentiel du TrisQ **17a** comme ligand de G-quadruplexe alliant une forte affinité ($\Delta T_{1/2} = 26.2^\circ\text{C}$) et une très bonne sélectivité pour ces structures ($S_{10} = 0.80$).

	17a (Na)	17a (K)
$\Delta T_{1/2}$ (°C)	10.2	26.2
$\Delta T_{1/2}$ (3 μ M) (°C)	9.4	24.4
$\Delta T_{1/2}$ (10 μ M) (°C)	4.2	21.1
S ₃	0.92	0.93
S ₁₀	0.41	0.80

Tableau 13. Résultats de FRET-melting pour le TrisQ **17a** en conditions sodium et potassium.

Ces mesures ont été complétées par des études en test G4-FID. Les mêmes matrices que pour les Trisamino-TrisKs ont été utilisées. Le TrisQ **17a** déplace efficacement le thiazole orange (TO) des matrices TBA et 22AG en présence d'ions potassium, avec des G^4DC_{50} (Tableau 14) de 0.57 et 0.46 μ M respectivement indiquant une forte affinité (Figure 102). Le test FID révèle également une moindre affinité pour la structure G-quadruplexe formée par le 22AG en présence de sodium (G^4DC_{50} =1.72 μ M, Tableau 14). Ceci confirme les résultats fournis par le FRET-melting.

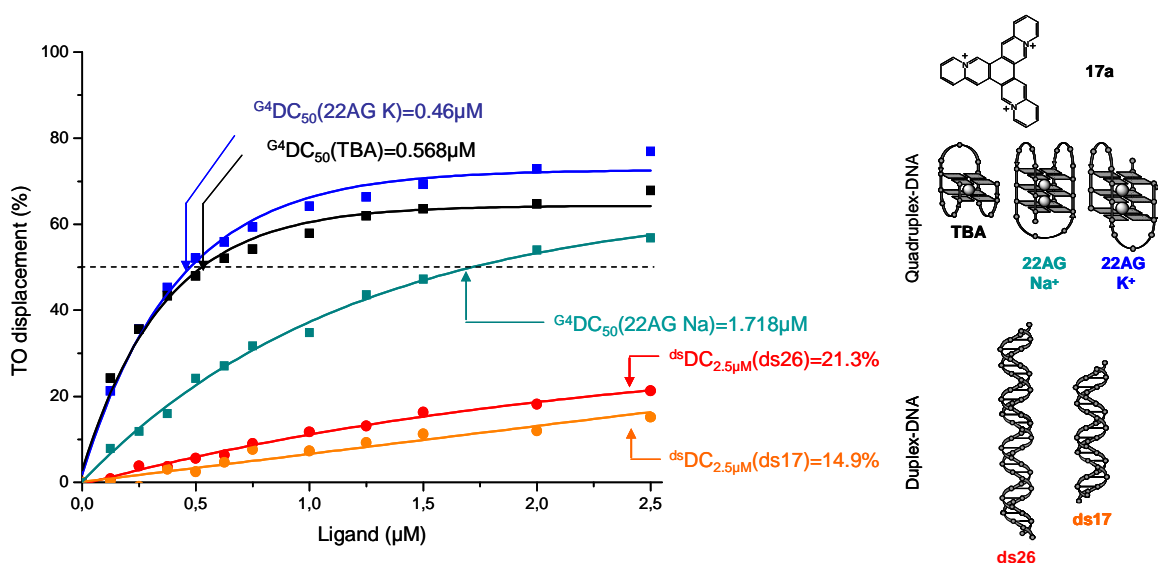


Figure 102. Résultats du test G4-FID pour le TrisQ **17a**. Conditions expérimentales : 0.5 μ M (pour TBA, 22AG et ds17) et 0.75 μ M (pour ds26) TO, 0.25 μ M ADN (22AG (courbes bleue et verte), TBA (courbe noire), ds17 (courbe orange) et ds26 (courbe rouge)) et concentration croissante de ligand (de 0 à 10équiv.), tampon cacodylate de sodium 10mM, 100mM NaCl (22AG Na⁺) ou 100mM KCl (22AG K⁺, TBA, ds17, ds26), pH 7.4.

Le TrisQ **17a** interagit peu avec les duplexes indépendamment de leur nature, le seuil de 50% de déplacement du TO n'étant jamais atteint même avec dix équivalents de ligand. Dans ce cas, la sélectivité est estimée selon la méthode décrite dans l'introduction §III.3.2. Les valeurs $^{ds}D(2.5\mu M)$ sont ici de 21.3 et 14.9% pour ds26 et ds17 respectivement, correspondant à des

valeurs de G^4C de 0.11, 0.13 et 0.45 μM pour TBA, 22AG K^+ , 22AG Na^+ à 21.3% (ds26) et 0.077, 0.092 et 0.34 pour TBA, 22AG K^+ , 22AG Na^+ à 14.9% (ds17). Les valeurs de sélectivité alors obtenues (Tableau 14) confirment une excellente sélectivité de **17a** pour le TBA et le 22AG en potassium, et une préférence plus modeste pour le 22AG en présence de sodium.

	G^4DC_{50} (μM)			$^{ds}DC_{50}$ (μM)		Sélectivité estimée ^a					
	22AG 22AG					TBA/		22AG		22AG	22AG
	TBA	K	Na	ds17	ds26	ds17	ds26	K/ds17	K/Ds26	Na/ds17	Na/ds26
17a	0.57	0.46	1.72	>2.5	>2.5	32.5	22.5	27.1	19.1	7.4	5.5

Tableau 14. Résultats des tests G4-FID pour le TrisQ **17a**. Erreurs expérimentales estimées à $\pm 5\%$. ^a Sélectivité estimée = $2.5/G^4C$.

Une différence d'affinité et de sélectivité du TrisQ **17a** pour les G-quadruplexes en conditions sodium ou potassium est observée en tests FRET-melting et G4-FID. De par sa structure purement aromatique, ce ligand doit interagir avec ces structures uniquement par empilement sur les G-quartets. La meilleure affinité pour la structure G-quadruplexe formée par la séquence télomérique humaine en présence d'ions potassium pourrait donc provenir d'une plus grande accessibilité de ses G-quartets pour le TrisQ **17a**. Ceci serait de plus cohérent avec l'affinité comparable de **17a** observée pour le 22AG et le TBA en conditions potassium. Cette différence de comportement avec les conditions ioniques n'est pas observée avec les Trisamino-TrisKs (Figure 101A), bien que présentant la même symétrie et la même surface aromatique. Très vraisemblablement, les interactions de stacking avec les G-quartets sont très renforcées dans le cas du TrisQ **17a**. En effet, les charges positives présentes dans le squelette aromatique appauvrissent la structure en électrons, renforçant par la même les interactions d'empilement avec la tétrade de guanines, riche en électrons.

Nous avons enfin réalisé des études de dichroïsme circulaire (CD) sur le 22AG en présence de **17a**. L'ajout de quantités croissantes de TrisQ ne modifie pas l'allure du signal CD de la structure antiparallèle obtenue en sodium (Figure 103A), malgré une légère modification de son amplitude. En revanche, comme précédemment observé avec les Trisamino-TrisK, le signal de la forme hybride en potassium est converti en un signal caractéristique d'une structure antiparallèle (Figure 103B). Nous pouvons donc à nouveau conclure que l'interaction de **17a** avec le 22AG en conditions potassium est assez forte pour déplacer

l'équilibre existant entre les différentes formes G-quadruplexe vers un unique complexe ligand/G-quadruplexe présentant des signaux caractéristiques des structures antiparallèles. Ces observations démontrent par ailleurs que le TrisQ est un bon ligand de G-quadruplexe, puisqu'un phénomène identique est observé avec des ligands de haute affinité [168-170].

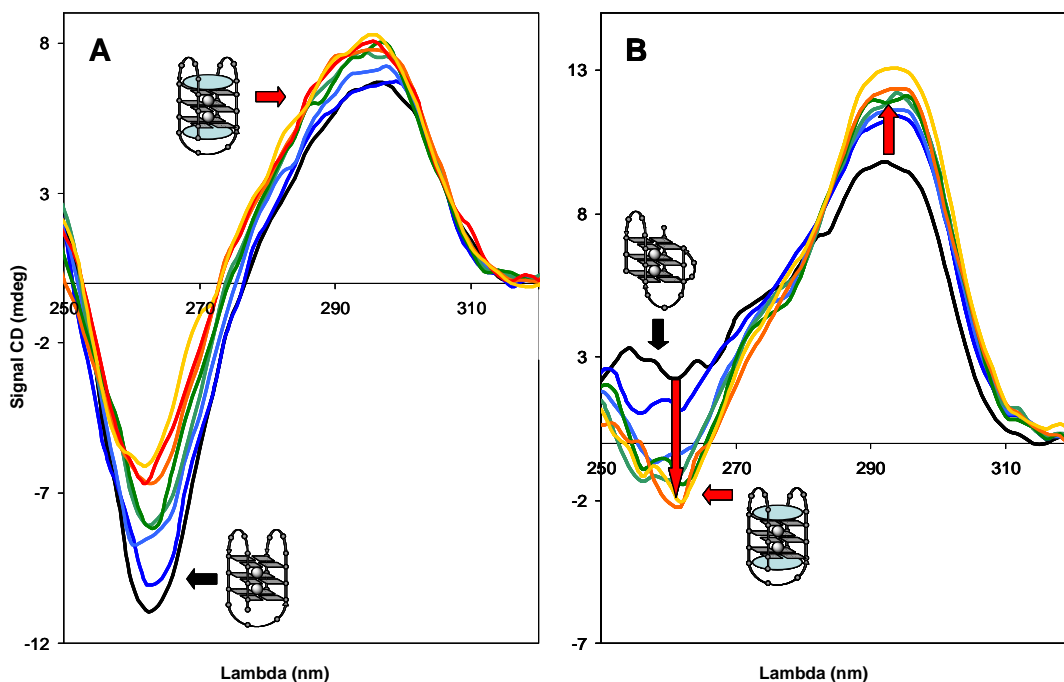


Figure 103. Etudes de dichroïsme circulaire avec le TrisQ **17a**. Conditions expérimentales : 3 μ M G-quadruplexe 22AG, tampon cacodylate de sodium 10mM, 100mM NaCl (**A**) ou 100mM KCl (**B**) avec concentrations croissantes de **14a** (0 (noir), 0.5 (bleu foncé), 1.0 (bleu clair), 1.5 (vert clair), 2.0 (vert foncé), 2.5 (orange) et 4.0 μ M (jaune) pour **A** et **B**.

Enfin, des additions croissantes de TrisQ sur une solution d'oligonucléotide non structuré (Figure 104 Gauche, courbe noire) induisent une modification importante du signal CD. Le signal caractéristique d'une structure G-quadruplexe antiparallèle apparaît (Figure 104 Gauche) et un point isoelliptique à 272nm (qui traduit une conversion propre entre deux états) est observé. Ici, le maximum formé à 292nm (et le minimum à 260nm) possède une intensité non négligeable indiquant un déplacement de l'équilibre entre la forme de départ et le G-quadruplexe, induit par **17a**.

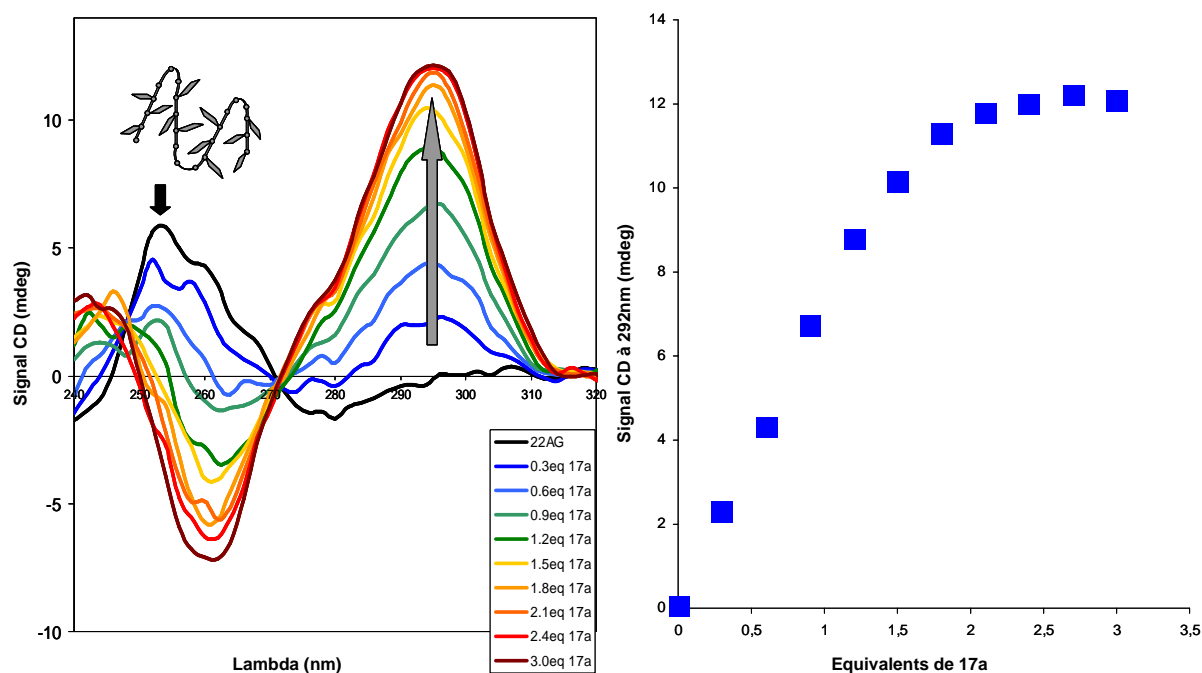


Figure 104. Gauche : Etudes de dichroïsme circulaire avec le TrisK **17a** sur le 22AG déstructuré. Conditions expérimentales : 3 μ M 22AG déstructuré, tampon TrisHCl 10mM avec concentrations croissantes de **17a**. Droite : Signal CD à 292nm en fonction du nombre d'équivalents de ligand.

La courbe représentant les variations de ce signal à 292nm en fonction de la quantité de ligand **17a** présente un changement de pente vers 2 équivalents (Figure 104 Droite) suggérant une stoechiométrie d'interaction ligand/G-quadruplexe de deux pour un. Cependant, ces études CD ne se déroulant pas dans des conditions thermodynamiques, nous ne pouvons pas tirer de conclusions fiables à ce propos. Une analyse ESI-MS serait intéressante et permettrait de répondre à cette question [152].

II.4. Photooxydation des bases de l'ADN par le TrisQ.

Les systèmes quinolizinium sont connus pour leur capacité à créer des dommages oxydants photoinduits. Nous nous sommes donc intéressés à caractériser le ligand TrisQ pour sa capacité à engendrer des dommages de l'ADN sous photoactivation. Cette activité de coupure présente un double intérêt [176]:

- diriger un dommage à un site précis et/ou déterminer *in vitro* un site de fixation
- interagir avec les systèmes de réparation et ultimement induire la mort cellulaire (cas des photosensibilisateurs et de la photo-thérapie dynamique).

Ce sont les états excités des agents de photo-coupure qui peuvent conduire à un dommage des acides nucléiques [177]. Le fait de déclencher le phénomène de coupure par irradiation est

d'un avantage certain : le processus peut tout d'abord être contrôlé temporellement et spatialement. Par ailleurs, si l'agent chimique peut être excité à des longueurs d'onde supérieures à 300nm, les acides nucléiques et la plupart des protéines seront transparents à l'irradiation, permettant ainsi d'exciter sélectivement l'agent de coupure et de réduire les réactions parasites.

Deux types de mécanisme de coupure peuvent être cités :

- i- oxydation des sucres, qui fonctionne par abstraction d'un hydrogène (à partir d'un radical hydroxyle par exemple)
- ii- oxydation des bases, qui s'effectue par transfert d'électron ou par production d'oxygène singulet. Les guanines possèdent le potentiel redox le plus bas et sont donc les bases les plus sensibles à l'oxydation.

L'ADN G-quadruplexe, riche en guanines, constitue une cible de choix pour les agents oxydants. Le développement d'agents de photosensibilisation spécifiques des G-quadruplexes pourrait fournir de nouveaux outils d'analyses de ces structures. De façon surprenante, très peu d'études de photo-oxydation des G-quadruplexes ont été rapportées à ce jour. On peut citer l'exemple des ligands **TMPyP2** et **TMPyP4** dont les sites de fixation sur les G-quadruplexes ont été analysés par des expériences de coupure photo-induite [178-180], révélant un stacking sur les boucles et sur un quartet externe pour ces deux ligands respectivement. Un empilement sur un quartet externe du ligand **QQ58** a également été montré par une étude de photo-oxydation [181].

Avant d'étudier l'aptitude du TrisQ à induire des photo-coupures sélectivement au niveau des G-quadruplexes, nous avons dans un premier temps déterminé si le TrisQ **17** présentait les caractéristiques nécessaires à un échange redox.

II.4.1. Potentiel redox à l'état excité

Pour qu'un ligand puisse induire une photooxydation des bases de l'ADN, et en particulier des guanines dont le potentiel d'oxydation est le plus bas, la réaction de formation du radical cation de la guanine doit être favorisée sur le plan thermodynamique : $G + L^* \rightarrow G^{\bullet+} + L^-$

Il s'agit donc de déterminer le potentiel redox du ligand à l'état excité E_L^* . Celui-ci est donné par l'équation : $E_L^* = E_L + E_A$ où E_L est le potentiel redox du ligand dans l'état fondamental

et E_A l'énergie d'excitation définie comme la demi-somme de l'énergie d'absorption UV-Vis et de l'énergie d'émission de fluorescence [182].

Les propriétés spectroscopiques du composé **17a** sont représentées Figure 105. L'absorption UV et l'émission de fluorescence sont caractérisées ici par la présence de deux bandes proches, d'intensités équivalentes ; la longueur d'onde moyenne entre ces bandes est donc considérée pour le calcul de l'énergie d'activation.

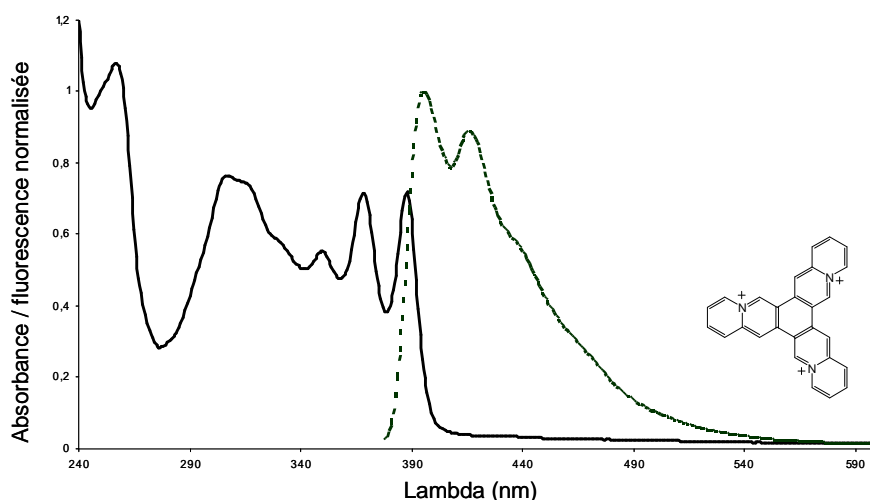


Figure 105. Absorption UV-Vis (courbe pleine) et émission de fluorescence ($\lambda_{exc}=368\text{nm}$) normalisée (courbe en pointillés) de **17a** (20 μM DMSO).

Les données sont résumées dans le Tableau 15, les énergies étant calculées avec la

relation: $E(\text{eV}) = \frac{hc}{1.6 \cdot 10^{-19} \lambda}$ avec $h = 6.62 \cdot 10^{-34} \text{ J.s}$, $c = 3 \cdot 10^8 \text{ m.s}^{-1}$ et λ en m.

	Absorption UV (nm)	énergie UV (eV)	émission de fluorescence (nm)	Energie fluorescence (eV)	Energie d'activation (eV)
17a	369, 388	3.28	396, 417	3.053	3.17

Tableau 15. Données spectroscopiques et énergie d'activation de **17a**.

Le potentiel redox du TrisQ **17a** est déterminé par voltamétrie cyclique dans des conditions expérimentales classiques¹. Comme le montre la Figure 106, deux potentiels peuvent être

¹ calomel saturé pour électrode de référence (SCE), carbone vitreux comme électrode de travail, **17a** à 1mM dans le DMSO, cellule de 5mL.

déterminés dans la zone des réductions : -0.44 et -1.14V (vs SCE, de potentiel standard 0.24V, [183]) soit les potentiels standard -0.20 et -0.90V (vs NHE : normalized hydrogen electrode, dont le potentiel vaut 0V par convention).

A partir de l'énergie d'activation et du premier potentiel redox à l'état fondamental, le potentiel redox de **17a** à l'état excité est évalué à 2.97eV. Les potentiels des bases de l'ADN dépendent de plusieurs paramètres parmi lesquels le pH et l'environnement quand elles sont incorporées dans un brin d'ADN. Si l'on considère le cas le plus simple des bases isolées (nucléosides), la littérature fournit les potentiels standards suivants (vs NHE) : guanine 1.29V, adénine 1.42V, cytosine 1.6V et thymine 1.7V. Des valeurs beaucoup plus faibles sont décrites pour les guanines impliquées dans des séquences d'ADN (un potentiel standard (vs NHE) de 0.64V est proposé pour la séquence 5'-GGG-3' dans un duplexe d'ADN par exemple) [184]. La structuration en G-quadruplexe doit aussi modifier notablement leurs propriétés redox. Cette étude montre néanmoins qu'en première approximation, le TrisQ **17a** est susceptible de photooxyder les guanines et les adénines.

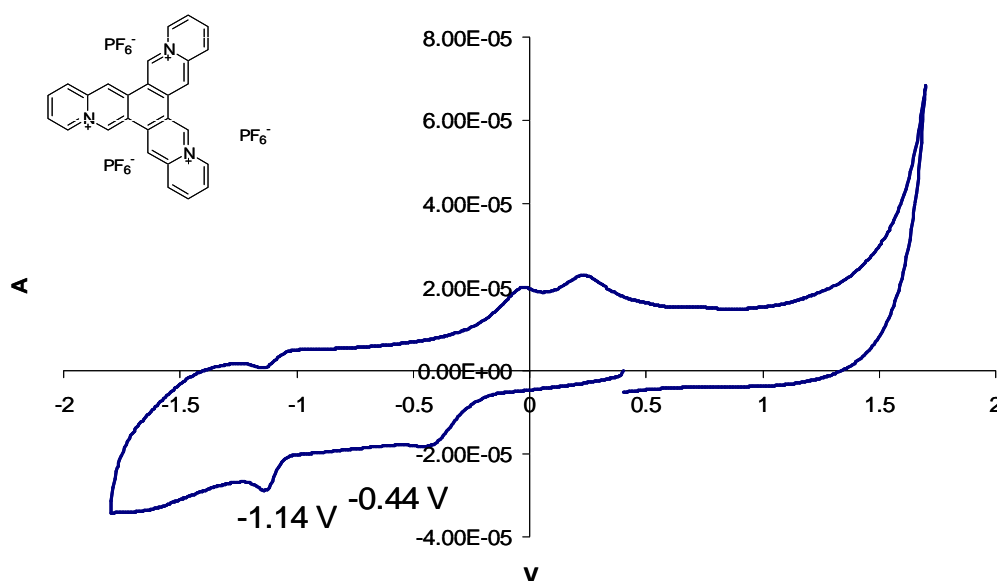


Figure 106. Voltammogramme du ligand **17a** (1mM dans le DMSO).

II.4.2. Coupage de l'ADN induite par irradiation

L'aptitude du TrisQ à induire des coupures de l'ADN sous irradiation a ensuite été étudiée. L'expérience a été réalisée sur le plasmide surenroulé pUC19 avec le dérivé tris-tétrafluoroborate TrisQ **17b**. Les coupures simple brin induites sous irradiation convertissent le plasmide surenroulé en un ADN circulaire relaxé, tandis que la répétition de coupures

simple brin conduit statistiquement à une coupure double brin entraînant la formation de fragments linéaires (Figure 107).

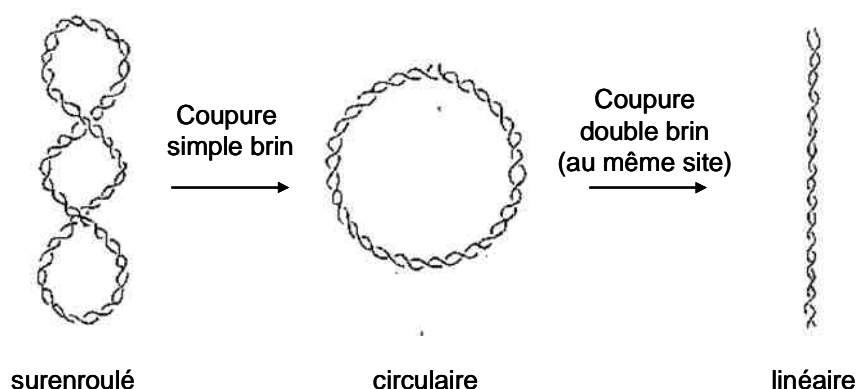


Figure 107. Conséquences des phénomènes de coupure sur l'état d'un plasmide.

Notons que ce test sur plasmide est très sensible (un seul événement de coupure suffit à changer l'état du plasmide) mais ne fournit aucune information quant à la potentielle sélectivité de séquence ou le mécanisme d'action de la molécule étudiée [177].

L'optimisation des conditions opératoires a conduit à utiliser une irradiation à 312nm et un rapport de concentrations ADN/ligand de 5/1. Les résultats sont présentés Figure 108 et Figure 109.

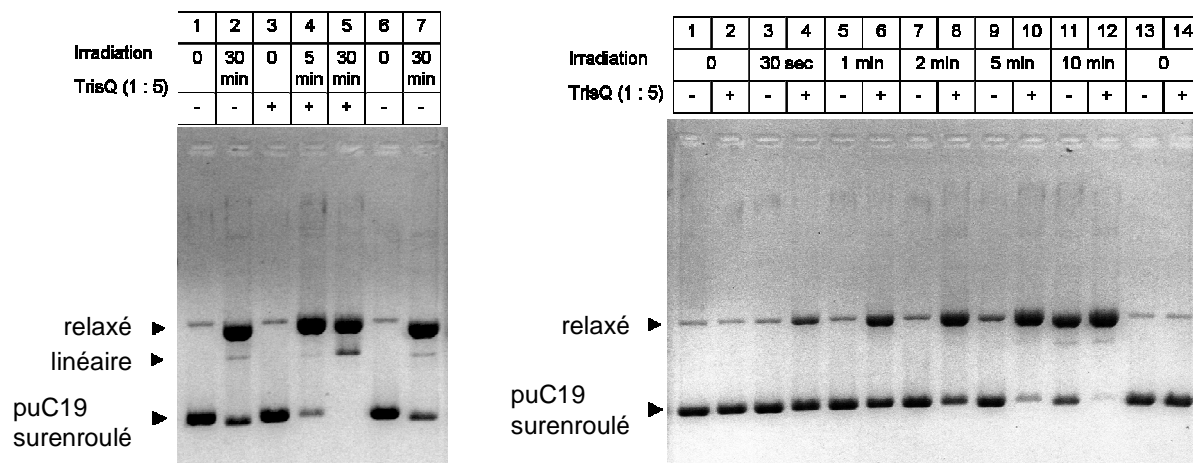


Figure 108. Résultats de coupure photo-induite du plasmide pUC19 (60μM) par le TrisQ 17b (12μM, tampon cacodylate de sodium, pH7.0). Irradiation à 312nm, détection au bromure d'éthidium.

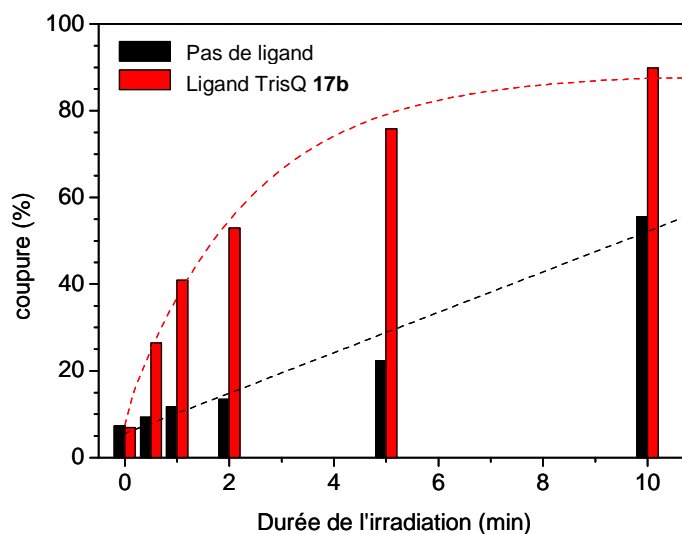


Figure 109. Analyse quantitative des coupures simple brin du plasmide pUC19 en absence (barres noires) et en présence de TrisQ **17b** (barres rouges).

Ces expériences montrent que le ligand TrisQ induit efficacement des coupures de l'ADN sous irradiation UV (90% de coupure simple brin pour une irradiation de 10min, Figure 109). Il est à noter que des temps d'exposition plus longs (30min) peuvent également entraîner la formation de coupures double brin comme le montre la présence de fragments linéaires au puits 5 (Figure 108 Gauche). Le traitement par le TrisQ **17b** sans irradiation n'induit pas de coupure du plasmide (puits 3, Figure 108 Gauche). On remarque cependant qu'une irradiation en absence de ligand provoque également des coupures du plasmide, aux proportions conséquentes particulièrement pour des temps d'exposition longs (55% à 10min, Figure 108 droite puits 11). Le taux de coupure induit par le ligand **17b** semble maximal pour des temps d'irradiation compris entre 2 et 5min (Figure 109).

Ces expériences préliminaires démontrent l'aptitude du TrisQ **17** à induire des coupures d'acides nucléiques sous irradiation. Des études sont en cours pour déterminer si le TrisQ peut se comporter comme un agent photosensibilisateur sélectif des G-quadruplexes.

II.5. Conclusions

Une autre approche dans le développement de ligands de G-quadruplexe de symétrie ternaire nous a amenés à synthétiser un trisquinolizinium TrisQ portant des charges positives intrinsèques dans le squelette aromatique. Les études de son interaction avec les G-quadruplexes démontrent une très bonne affinité et une grande sélectivité pour ces structures,

en particulier avec le G-quadruplexe formé en présence d'ions potassium par la séquence télomérique humaine. Etant donné la structure de ce ligand, il est évident que son mode d'interaction est gouverné que par la reconnaissance des G-quartets. La différence observée dans la stabilisation en conditions sodium et potassium pourrait donc provenir d'une accessibilité différente des quartets externes dans les structures formées majoritairement dans ces différentes conditions ioniques. Des premiers résultats ont été obtenus mettant en évidence la capacité du TrisQ à photooxyder l'ADN. La haute sélectivité de ce composé pour les G-quadruplexes pourrait faire de ce ligand une nucléase artificielle spécifique de ces structures.

III. Conclusions générales et perspectives

Dans ce premier chapitre, nous avons étudié l'aptitude de molécules de symétrie ternaire à interagir avec les structures G-quadruplexes. Le squelette aromatique des TrisKs présentés en première partie a été utilisé avec succès pour cette application en y introduisant des chaînes aminées protonables à pH physiologique. Les fonctions amines libres terminales se révèlent nécessaires dans ce système et permettent d'atteindre de fortes affinités pour les G-quadruplexes comme le montrent les exemples des Trisamino-TrisK **13a** et **14a**. La sélectivité pour ces structures, bien qu'honorable, reste à optimiser. L'introduction de chaînes latérales permettant par exemple d'établir des interactions supplémentaires avec les boucles des G-quadruplexes est ainsi à envisager.

La seconde approche étudiée a consisté à introduire des charges positives intrinsèques dans le squelette aromatique. Les résultats obtenus avec le TrisQ **17a** confirment la validité de cette stratégie. Ce ligand présente une forte affinité et une très grande sélectivité pour les structures G-quadruplexes particulièrement en conditions potassium. Cette meilleure stabilisation en présence de potassium pourrait provenir d'une plus grande accessibilité des G-quartets, qui gouvernent l'interaction de ce composé. Outre ses propriétés très intéressantes de ligand de G-quadruplexe, le TrisQ est capable d'induire des coupures de l'ADN sous irradiation ; deux caractéristiques qu'il serait intéressant d'utiliser conjointement.

A travers ces deux séries de composés, ce chapitre confirme donc l'intérêt de la symétrie C_3 , jusqu'alors peu exploitée, dans le développement de nouveaux ligands d'ADN G-quadruplexe.

Chapitre 2 : Complexes métalliques de dérivés de terpyridines

Intensément étudiés pour leur interaction avec l'ADN duplexe [185-187], les complexes métalliques suscitent actuellement un nouvel intérêt en tant que ligands d'ADN G-quadruplexe. Des exemples récents (voir Introduction §III.1.4) comme le Ni(II)-salphen [119] ou la Mn(III)-porphyrin [120] se sont en effet révélés particulièrement performants dans ce contexte. Nous avons étudié cette approche à travers le développement de complexes métalliques de dérivés de terpyridine. Ceux-ci présentent l'avantage d'un accès synthétique rapide et efficace et permettent le contrôle de la géométrie par un choix judicieux du centre métallique.

I. Complexes métalliques de terpyridine, généralités.

Les terpyridines sont des molécules hétéroaromatiques tridentates largement employées en chimie de coordination ; elles offrent en effet une triple chélation plane et bien définie. Ce motif voit son utilisation croître continuellement dans de nombreux domaines depuis la seconde moitié du XX^{ème} siècle [188, 189]. Ses complexes de métaux de transition sont développés pour de nombreux champs d'application tels que la chimie supramoléculaire [190-192] ou la luminescence [193]. Dans le domaine de la biologie, les complexes métalliques de dérivés de terpyridine sont essentiellement étudiés pour leur interaction avec l'ADN et leurs activités biologiques antitumorales. Ceux-ci peuvent être classés en plusieurs catégories selon leur structure chimique ; seuls quelques exemples représentatifs sont proposés dans ce paragraphe :

i- les complexes de type $[M(tpy)L]^{x+}$ (où M est un métal - majoritairement Pt ou Ru - tpy est une terpyridine - fonctionnalisée ou non - et L un ligand complétant la sphère coordination du métal). Ce type de complexe est celui développé au cours de ce travail de thèse. Avec un platine comme centre métallique, ils interagissent avec l'ADN duplexe par intercalation si L est un ligand non labile (carboné ou soufré par exemple [185], Figure 110 *i-A*) ou selon un mode mixte intercalation et platination des bases de l'ADN (voir Chapitre 3) si L est un ligand labile (hydroxyle [194], chlorure [195] ou amine aromatique [196, 197], Figure 110 *i-B*).

ii- les conjugués présentant un complexe métallique de terpyridine couplé à une autre unité fonctionnelle, développés plus récemment. On peut ainsi citer un conjugué d'acridine (Figure 110 *ii-A*, [198]) ou un conjugué d'estrogène (Figure 110 *ii-B*, [199]). Leur mode d'interaction suit le même principe que la catégorie précédente, l'unité fonctionnelle introduisant un meilleur ciblage de l'entité biologique visée.

iii- les complexes de terpyridine bimétalliques [186], hétéronucléaires ou homonucléaires. Ils peuvent présenter une unité interagissant par intercalation et une autre induisant la platination de l'ADN (Figure 110 *iii-A*) ou encore deux motifs intercalant (Figure 110 *iii-B*).

iv- les complexes dont la sphère de coordination est totalement occupée par des polypyridines. Ces complexes, interagissant avec l'ADN par intercalation présentent une plus large diversité de métaux : Pt [200], Ru [201] (Figure 110 *iv-A*), Cu [202], Rh [203-205] (Figure 110 *iv-B*) etc.

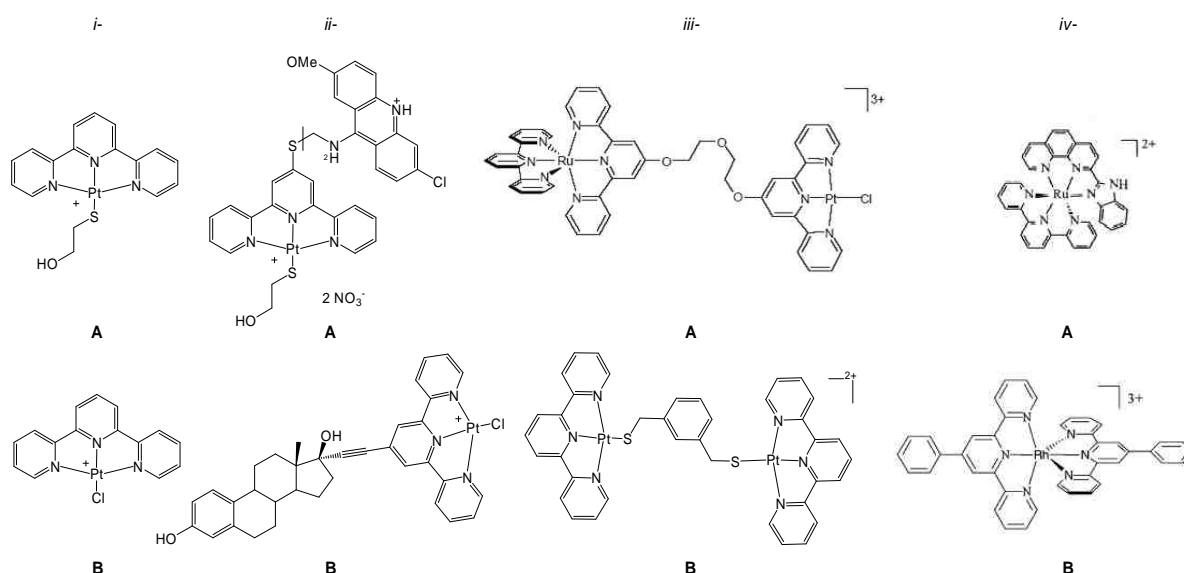


Figure 110. Exemples de complexes métalliques de dérivés de terpyridine étudiés pour leur interaction avec l'ADN duplexe.

Ces quelques exemples montrent l'étendue de l'intérêt porté à ces complexes métalliques de dérivés de terpyridine pour leurs propriétés d'interaction avec l'ADN duplexe. Leur surface plane, propice à l'interaction avec les G-quadruplexes, et la présence d'un cation métallique central nous ont poussés à caractériser l'aptitude de ces composés à reconnaître les structures G-quadruplexes.

II. Synthèse et étude de complexes métalliques de dérivés de terpyridine.

II.1. Synthèse des complexes.

Nous nous sommes ici intéressés à l'étude de l'influence de la nature (et donc de la géométrie) du centre métallique, plutôt qu'à la nature de l'agent complexant. Nous avons pour cela utilisé des complexes de terpyridine, le motif terpyridine étant d'un accès synthétique rapide voire commercial. Différents complexes métalliques ont été préparés, en utilisant trois dérivés de terpyridine et quatre métaux. Parmi les trois dérivés de terpyridine, deux sont disponibles commercialement, la 2,2':6',2''-terpyridine (Terpy ou **tpy 18**, le dérivé le plus simple) et la 4'-(4-méthylphenyl)-2,2':6',2''-terpyridine (TolTerpy ou **ttpy 19**) possédant une surface aromatique plus étendue. Le troisième est un composé cationique, la 4'-(N,N-diméthyl-1,3-propanediamine-4-méthylphenyl)-2,2':6',2''-terpyridine **ctpy 20** (Figure 111). Celle-ci a été préparée dans le but d'améliorer l'hydrosolubilité et de former des interactions électrostatiques supplémentaires avec le G-quadruplexe. Elle est obtenue en deux étapes à partir de la TolTerpy **19** par bromation de cette dernière par du N-bromosuccinimide en présence de peroxyde de benzoyle dans le CCl_4 puis amination directe par réaction de Williamson en présence d'un équivalent de N,N-diméthyl-1,3-diaminopropane et de triéthylamine au reflux du DMF.

Les quatre métaux utilisés sont le cuivre Cu(II), le platine Pt(II), le zinc Zn(II) et le ruthénium Ru(III) (Figure 111). La synthèse des complexes métalliques suit des procédures simples, caractéristiques du métal choisi :

- complexes de cuivre Cu(II) et de zinc Zn(II): une solution d'un équivalent de nitrate de cuivre ou de chlorure de zinc dans l'acétonitrile anhydre est déposée sur une solution de terpyridine dans le dichlorométhane anhydre. Les complexes désirés cristallisent à froid. Notons que le cuivre II est paramagnétique, aucune analyse RMN n'a donc pu être réalisée avec ce métal, les analyses étant alors menées par spectrométrie de masse et cristallographie.
- complexes de platine Pt(II) : la réaction de complexation est réalisée dans le méthanol avec le $\text{Pt}(\text{COD})\text{Cl}_2$ comme précurseur (COD pour cyclooctadiène) [206].
- complexe de ruthénium Ru(III) : la réaction de complexation est réalisée dans l'éthanol absolu avec le $\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ comme précurseur. Ici encore, le complexe obtenu étant paramagnétique, les analyses ont été réalisées par spectrométrie de masse [207].

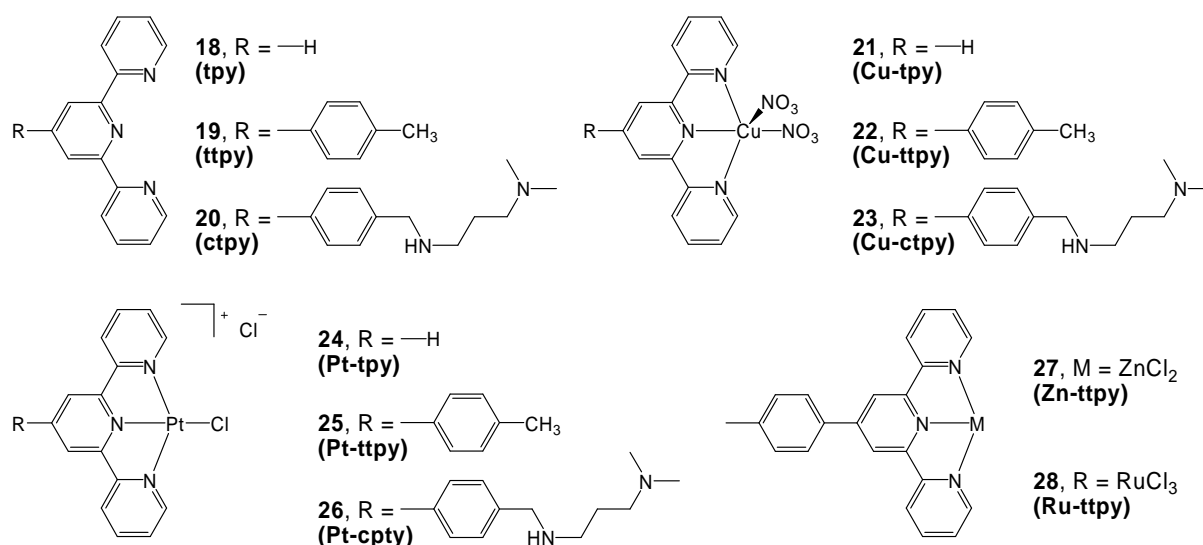


Figure 111. Structures des terpyridines **18** à **20** et des complexes métalliques **21-28** correspondant.

II.2. Etudes de l'interaction des complexes métalliques avec le G-quadruplexe.

II.2.1. Affinité pour les structures G-quadruplexes.

L'interaction de ces composés avec l'ADN G-quadruplexe a été étudiée par FRET-melting (en conditions sodium) et G4-FID (en conditions potassium et/ou sodium). Les terpyridines non complexées **tpy**, **ttpy** et **ctpy** (**18**, **19** et **20** respectivement) se révèlent très peu affines pour le G-quadruplexe. En effet, en test G4-FID, aucune d'entre elles ne permet d'atteindre le seuil de déplacement du TO de 50% en conditions potassium, dans la gamme de concentrations utilisée (Figure 112A, courbes noires, motifs blancs). Elles sont donc caractérisées par des $^{G4}DC_{50} > 2.5 \mu M$. Cette faible affinité est confirmée en FRET-melting par des $\Delta T_{1/2}$ inférieurs à 8°C (Figure 113). Ces résultats, bien que peu significatifs étant donné la faible solubilité dans l'eau des terpyridines **tpy 18** et **ttpy 19**, serviront de référence pour évaluer l'impact de l'introduction d'un centre métallique sur la reconnaissance des G-quadruplexes. Comme précisé dans l'introduction §III.1.4, l'effet positif attendu est basé sur le positionnement supposé du métal central au dessus du canal ionique formé dans le G-quadruplexe, induisant ainsi un empilement optimisé de la molécule complexante sur le quartet.

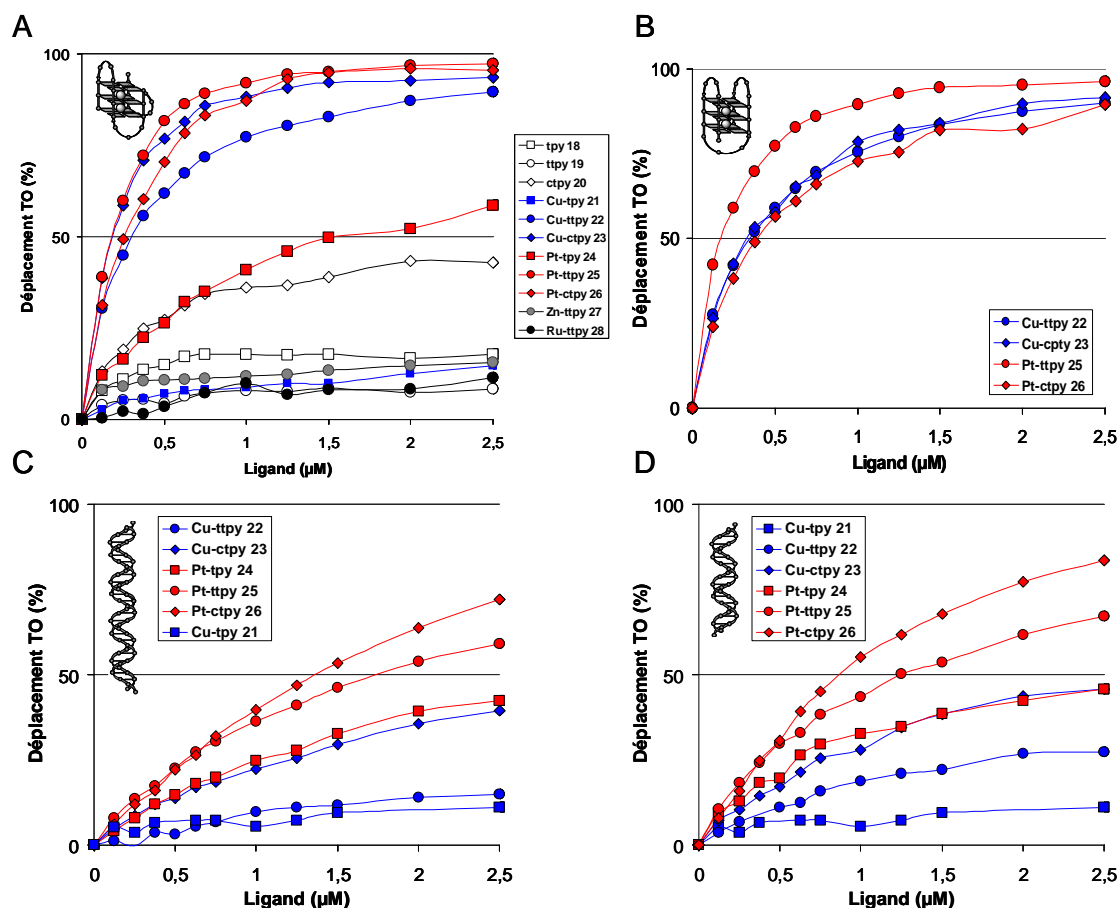


Figure 112. Résultats en test G4-FID des terpyridines **18-20** et des complexes métalliques associés **21-28**. **A.** 22AG K⁺, **B.** 22AG Na⁺, **C.** ds26, **D.** ds17. Conditions expérimentales : 0.5μM (pour 22AG et ds17) et 0.75μM (pour ds26) TO, 0.25μM ADN et concentration croissante de ligand (de 0 à 10équiv.), tampon cacodylate de sodium 10mM, 100mM NaCl (22AG Na⁺) ou 100mM KCl (22AG K⁺, ds17, ds26), pH 7.4. Les résultats du test G4-FID avec la matrice TBA sont disponibles en annexe D. Les courbes G4-FID des complexes de cuivre **22-23** et de platine **25-26** avec chaque matrice d'ADN sont présentés en annexe E.

Les complexes de cuivre (courbes bleues, Figure 112A) et de platine (courbes rouges, Figure 112A) sont beaucoup plus affins que les terpyridines libres correspondantes (avec des $G^4DC_{50} < 0.3\mu M$ en présence d'ions potassium), avec l'exception notable des dérivés **Cu-tpy 21** et **Pt-tpy 24** caractérisés par une faible interaction ($G^4DC_{50} > 2.5\mu M$ et $= 1.46\mu M$ respectivement, en conditions potassium). Ces bonnes affinités pour les complexes **Cu-tpy 22**, **Cu-ctpy 23**, **Pt-tpy 25** et **Pt-ctpy 26** se retrouvent dans des conditions sodium avec des valeurs tout à fait similaires ($G^4DC_{50} < 0.39\mu M$) (Figure 112B).

Les mêmes tendances sont démontrées en FRET-melting avec de bonnes stabilisations comprises entre 10 et 16°C pour les complexes **Cu-tpy 22**, **Cu-ctpy 23**, **Pt-tpy 25** et **Pt-ctpy 26** tandis que les dérivés **Cu-tpy 21** et **Pt-tpy 24** n'induisent une stabilisation que d'environ 1°C (Figure 113). Ces observations soulignent l'importance de la surface

aromatique de la molécule complexante : les motifs **ttpy** et **ctpy**, plus étendus, sont plus adaptés à la reconnaissance des structures G-quadruplexes.

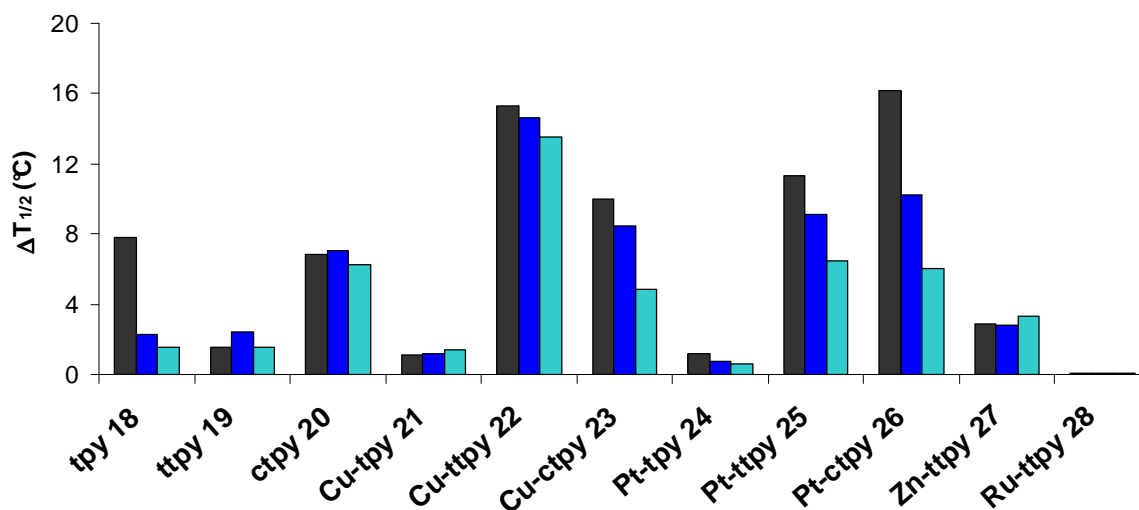


Figure 113. Résultats de FRET-melting pour les terpyridines **18-20** et les complexes métalliques associés **21-28**. Conditions expérimentales : 0.2 μM F21T, 1 μM ligand, sans (barres noires), avec 3 μM (barres bleues foncées) et 10 μM (barres bleues claires) ds26, tampon cacodylate de lithium 10mM, 100mM NaCl, pH 7.2. Les courbes FRET obtenues pour les terpyridines **18-20** et les complexes métalliques associés **21-28** sont présentées en annexe F.

Les complexes de zinc **27** et de ruthénium **28** interagissent faiblement avec le G-quadruplexe : ils n'induisent qu'un faible déplacement du TO en test G4-FID ($G^4DC_{50} > 2.5 \mu M$, Figure 112A) et une faible stabilisation en FRET-melting ($\Delta T_{1/2} < 4^\circ C$, Figure 113). La nature du métal est donc un paramètre essentiel pour l'aptitude des complexes à interagir avec le quadruplexe. Cette disparité de comportement peut être justifiée par les différentes géométries des complexes (Figure 114). Les complexes de Pt(II) de géométrie plan carré [208, 209] et les complexes de Cu(II), pyramidaux à base carrée [210, 211] présentent une face plane favorisant les interactions de stacking avec les G-quartets externes des G-quadruplexes. En revanche, les complexes de Zn(II) de géométrie bipyramidale trigonale [212, 213] et ceux de Ru(III) [214], octaédriques, présentent deux faces encombrées par les ions chlorure qui gênent les interactions avec les G-quartets.

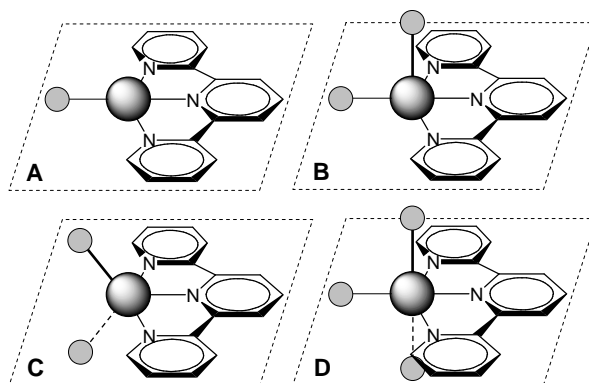


Figure 114. Représentation schématique des complexes métalliques de terpyridine avec des géométries **A** : plan carré, **B** : pyramidal à base carrée, **C** : bipyramidal trigonal, **D** : octaédrique.

II.2.2. Sélectivité pour les G-quadruplexes.

La sélectivité G-quadruplexe vs duplexe d'ADN des complexes de cuivre et de platine les plus affins **Cu-ttpty 22**, **Cu-ctpy 23**, **Pt-ttpty 25** et **Pt-ctpy 26** a ensuite été évaluée. Les matrices utilisées en test G4-FID comparatif sont les mêmes que dans le chapitre précédent : les quadruplexes 22AG (en sodium et en potassium) et TBA et les duplexes ds17 et ds26. Notons tout d'abord que chaque complexe présente des affinités comparables pour toutes les matrices G-quadruplexes, comme le montrent les valeurs de G^4DC_{50} résumées dans le Tableau 16.

Les complexes de platine **25** et **26** (courbes rouges, Figure 112C,D) déplacent le TO des matrices ADN duplexes plus efficacement que les complexes de cuivre **22** et **23** correspondants (courbes bleues, Figure 112C,D). Cette observation peut à nouveau être rationalisée par des considérations géométriques. En effet, avec leur géométrie plan carré, les complexes de platine présentent deux faces planes ; ils sont donc enclins à s'intercaler dans l'ADN duplexe, propriété pour laquelle ils ont été abondamment étudiés [185-187]. Par opposition, les complexes de cuivre, pyramidaux à base carrée possèdent un ligand apical (ici un nitrate) qui peut empêcher l'intercalation dans le duplexe. Cette géométrie a été confirmée par cristallographie aux rayons X avec le complexe **Cu-ttpty 22** (paragraphe suivant).

Enfin, la présence de la chaîne aminée latérale sur le motif terpyridine (**ctpy**) favorise les interactions électrostatiques aléatoires avec les matrices ADN. Les complexes **Cu-ctpy 23** et **Pt-ctpy 26** (losanges bleus et rouges respectivement, Figure 112C,D) induisent donc un meilleur déplacement du TO des matrices duplexes que leurs analogues **ttpty 22** et **25** correspondants. Les valeurs de sélectivité ainsi déterminées sont résumées dans le Tableau 16. Le complexe **Cu-ttpty 22** apparaît comme le meilleur ligand de cette série avec le meilleur

compromis entre termes d'affinité ($\Delta T_{1/2}=15.3^{\circ}\text{C}$, ${}^{\text{G4}}\text{DC}_{50}(\text{Na}^+)=0.34\mu\text{M}$) et de sélectivité pour le G-quadruplexe ($S_3=0.95$), ce qui souligne à nouveau l'importance de la géométrie du centre métallique et de la nature de la molécule aromatique coordonnant celui-ci.

G4-FID comparatif											
Ligand	22AG K+ ${}^{\text{G4}}\text{DC}_{50}$	22AG Na+ ${}^{\text{G4}}\text{DC}_{50}$	TBA ${}^{\text{G4}}\text{DC}_{50}$	ds17 ${}^{\text{ds}}\text{DC}_{50}$	ds26 ${}^{\text{ds}}\text{DC}_{50}$	G4- FID Sel. ^b	G4- FID Sel.	G4- FID Sel.	G4- FID Sel.	G4- FID Sel.	G4- FID Sel.
	(μM)	(μM)	(μM)	(μM)	(μM)	22AG K vs ds26	22AG K vs ds17	22AG Na vs ds26	22AG Na vs ds17	TBA vs ds26	TBA vs ds17
tpy 18	>2.5	^a	-	-	-	-	-	-	-	-	-
tppy 19	>2.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ctpy 20	>2.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cu-tpy 21	>2.5	-	>2.5	>2.5	>2.5	-	-	-	-	-	-
Cu-tppy 22	0.30	0.34	0.53	>2.5	>2.5	22	22	36	20	28	13
Cu-ctpy 23	0.19	0.33	0.21	>2.5	>2.5	19	15	10	9	17	15
Pt-tpy 24	1.46	-	1.16	>2.5	>2.5	2	2	-	-	3.5	2.5
Pt-tppy 25	0.18	0.17	0.14	1.26	1.74	10	7	10	7	12	9
Pt-ctpy 26	0.25	0.39	0.19	0.86	1.37	5	3	3.5	2	7	4.5
Zn-tppy 27	>2.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ru-tppy 28	>2.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 16. Résultats de G4-FID pour les terpyridines **18-20** et les complexes métalliques correspondants **21-28**. Erreurs expérimentales estimées à $\pm 5\%$. ^a non déterminé, ^b Sélectivité définie par le rapport ${}^{\text{ds}}\text{DC}_{50}/{}^{\text{G4}}\text{DC}_{50}$ ou, quand ${}^{\text{ds}}\text{DC}_{50} > 2.5\mu\text{M}$ sélectivité estimée = $2.5/{}^{\text{G4}}\text{C}$.

Ces résultats sont confirmés en FRET-melting compétitif (Figure 113 et Tableau 17). Si la stabilisation induite par les complexes **Cu-tppy 22**, **Cu-ctpy 23** et **Pt-tppy 25** est fortement maintenue lors de l'ajout de $3\mu\text{M}$ de duplexe compétiteur ds26 (95, 85 et 80% respectivement), le dérivé **Cu-tppy 22** est de loin le ligand le plus résistant dans la compétition en présence de $10\mu\text{M}$ de duplexe (88%).

FRET Compétitif					
Ligand	$\Delta T_{1/2}$ (°C)			Sélectivité	
	+0 μ M ds26	+3 μ M ds26	+10 μ M ds26	S ₃	S ₁₀
tpy 18	7.8	2.3	1.5	0.3	0.2
ttpy 19	1.6	2.4	1.6	- ^a	-
ctpy 20	6.8	7.0	6.3	1	0.93
Cu-tpy 21	1.1	1.1	1.4	-	-
Cu-ttpy 22	15.3	14.6	13.5	0.95	0.88
Cu-ctpy 23	10.0	8.5	4.8	0.85	0.48
Pt-tpy 24	1.1	0.7	0.6	-	-
Pt-ttpy 25	11.3	9.1	6.5	0.8	0.57
Pt-ctpy 26	16.2	10.2	6.0	0.63	0.37
Zn-ttpy 27	2.9	2.8	3.3	-	-
Ru-ttpy 28	0.1	0.1	0.1	-	-

Tableau 17. Résultats de FRET-melting pour les terpyridines **18-20** et les complexes métalliques correspondants **21-28**. ^a non déterminé car $\Delta T_{1/2}(-ds26) < 3^\circ\text{C}$

II.2.3. Rationalisation des résultats de Cu-ttpy 22, études cristallographiques.

Afin d'appuyer notre hypothèse quant à l'impact de la géométrie du complexe sur ses propriétés d'interaction avec les G-quadruplexes, des études de diffraction des rayons X ont été menées sur le meilleur ligand de cette série, le **Cu-ttpy 22**. La structure cristalline déterminée (de groupe d'espace $P2_1/C$) confirme la géométrie pyramidale à base carrée, avec une légère déviation de 20.4° de la liaison Cu-O(2) par rapport au plan défini par le motif terpyridine (Figure 115), l'atome de cuivre se situant en revanche parfaitement dans ce plan.

Le nitrate apical est désordonné, les atomes N(4), O(5) et O(6) présentant deux positions avec des facteurs d'occupation égaux 50/50 (l'atome O(4) étant affiné à un facteur d'occupation de 1). Les angles O(2)-Cu-O(5a) et O(2)-Cu-O(6b) valent respectivement 102.3° et 76.4° , correspondant à une valeur moyenne de 89.3° . Enfin, la coordination au métal des groupements nitrate en positions apicales est moins forte, avec des distances Cu-O(5a) et Cu-O(6b) plus grandes que Cu-O(2) (2.15 et 2.28 Å contre 1.99 Å respectivement).

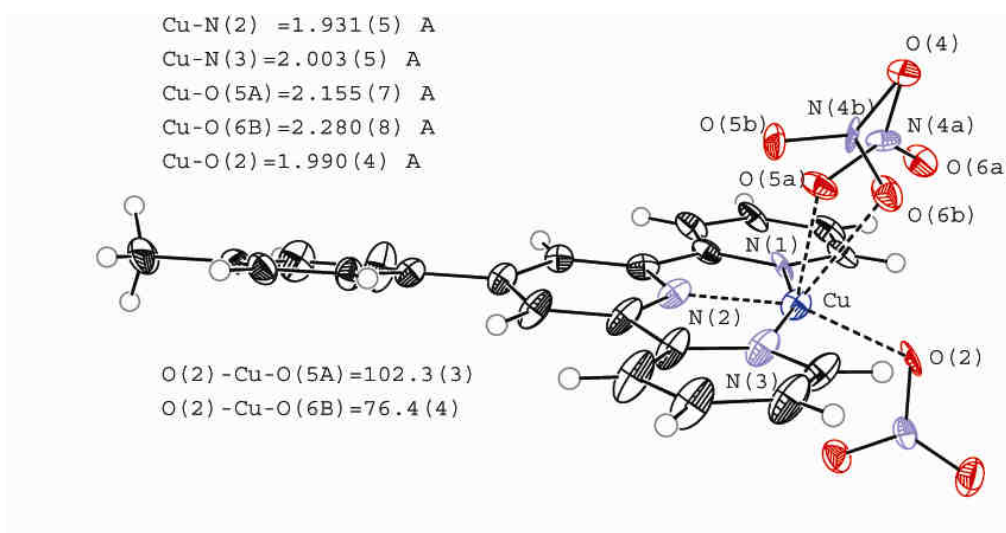


Figure 115. Figure ORTEP de la structure cristalline du complexe $\text{Cu}(\text{ttpy})(\text{NO}_3)_2$ **22** et valeurs de longueurs de liaisons et d'angles d'intérêt.

Ces études cristallographiques confirment donc la géométrie pyramidale à base carrée du complexe **Cu-ttpy 22**, qui semble tout à fait adaptée à l'interaction avec les G-quadruplexes : une face plane pour le recouvrement avec les G-quartets externes et un ligand apical empêchant l'intercalation dans l'ADN duplexe.

III. Conclusions et perspectives.

Dans ce chapitre, nous avons développé une série de complexes métalliques de terpyridines et étudié leurs propriétés en tant que ligands d'ADN G-quadruplexe. Nous avons mis en évidence l'importance de l'étendue aromatique du motif terpyridine et particulièrement de la géométrie du centre métallique dans les interactions de ces composés avec ces structures d'ADN. Les complexes de platine et de cuivre des dérivés de terpyridine étudiés ici combinent un accès synthétique rapide et de bonnes propriétés de reconnaissance d'ADN G-quadruplexe. Le dérivé **Cu-ttpy 22** représente le meilleur compromis alliant une bonne affinité et une forte sélectivité pour ces structures. Ces caractéristiques ont été rationalisées en termes de géométrie du complexe, particulièrement adaptée à l'interaction avec les G-quadruplexes.

Nous avons cherché à utiliser plus avant l'affinité et la sélectivité de ces ligands pour les G-quadruplexes. Des expériences préliminaires sont en cours pour étudier l'activité potentielle de **Cu-ttpy** en coupure chimique de l'ADN. Par ailleurs, les complexes de platine sont

capables de créer des liaisons fortes quasi-covalentes avec ces structures. Le chapitre suivant présente les résultats obtenus dans ce contexte, la platination des G-quadruplexes.

Enfin, des optimisations du motif aromatique terpyridine sont en cours dans le but d'atteindre une meilleure affinité pour les G-quadruplexes et de conserver la très bonne sélectivité observée. Elles consistent dans un premier temps à en étendre la surface aromatique (Figure 116).

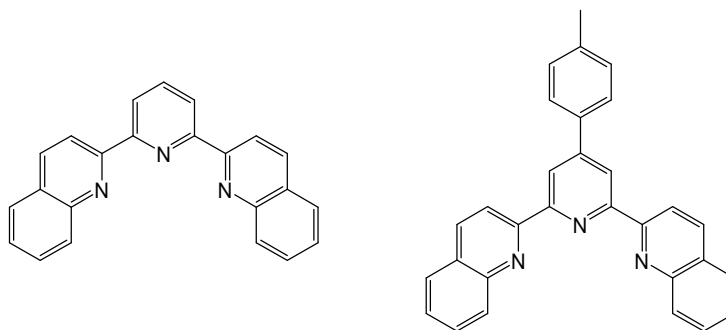


Figure 116. Dérivés de terpyridine développés en vue de l'optimisation du recouvrement avec les tétrades : 2,2'-(2,6-pyridine-di-yl)-bis-quinoline et dérivé.

Chapitre 3 : Platination des G-quadruplexes par des complexes de platine.

Les complexes de platine constituent une classe d'agents anticancéreux très utilisée en clinique. Depuis la découverte du cisplatine en 1965, de nombreux complexes ont été développés et étudiés pour leur mécanisme d'action biologique. Leurs propriétés anticancéreuses proviennent de leur interaction avec l'ADN : les complexes de platine forment préférentiellement des liaisons fortes quasi-covalentes avec les azotes N7 des purines. Les télomères, de séquences riches en guanines ((TTAGGG)_n chez l'homme), sont donc des cibles potentielles pour ces complexes. Il a été par ailleurs démontré que les complexes de platine pouvaient former des adduits avec les structures G-quadruplexes (voir plus loin §I.3). Nous avons donc étudié dans ce contexte la capacité des complexes de platine de terpyridine développés au chapitre précédent, à platiner ces structures G-quadruplexes. Le profil de platination obtenu nous permet de proposer un mode d'interaction de ces composés avec les G-quadruplexes. Nous avons également développé des complexes hybrides comprenant un ligand de G-quadruplexe relié à une unité platine monofonctionnelle dans le but de piéger irréversiblement ces structures. Ces nouveaux complexes constituent des sondes de structure intéressantes au comportement original.

Avant de présenter nos travaux, nous introduirons succinctement le domaine des complexes de platine, leur interaction avec l'ADN et leur activité anti-tumorale. Nous présenterons ensuite les études relatives à leur action au niveau des télomères et de la télomérase, avant de détailler les travaux caractérisant l'interaction de certains d'entre eux avec les structures G-quadruplexes.

I. Introduction

I.1. Complexes de platine et stratégie anti-cancéreuse

Le cisplatine (cisdiaminedichloroplatine, *cis*-[Pt(II)Cl₂(NH₃)₂], Figure 117A), découvert fortuitement en 1965 [215] est aujourd'hui encore un des agents les plus utilisés et les plus efficaces en chimiothérapie anti-cancéreuse. Son efficacité s'accompagne cependant d'effets secondaires et de phénomènes de résistance limitant ses applications [216-219]. Un nombre

impressionnant de nouveaux complexes de platine a ainsi été développé depuis 40 ans dans le but de surmonter ces limitations [220-224]. Parmi les plus efficaces, on peut citer la carboplatine (qui présente cependant les mêmes problèmes de résistance), l'oxaliplatine (premier à montrer une activité dans le cancer du colon) ou le picoplatine (Figure 117).

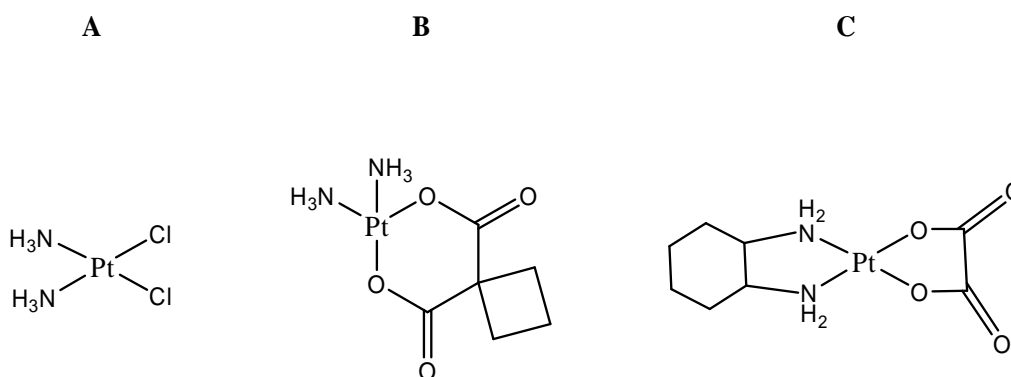


Figure 117. Structures chimiques : **A.** cisplatine, **B.** carboplatine, **C.** oxaliplatine.

Toutes ces études contribuent à la compréhension toujours plus approfondie des mécanismes cellulaires associés aux complexes de platine. Après pénétration dans la cellule, le cisplatine (par exemple) est transformé en espèces mono et diaqua positivement chargées (substitution des chlores labiles par des molécules d'eau appelée aussi aquation du complexe), qui se fixent à l'ADN de façon quasi-covalente [225] (Figure 118A). Ils coordonnent plus précisément les azotes N7 des purines (avec une préférence pour la guanine [226]) pour former des pontages 1,2 intra-caténaires (d(GpG) majoritaires - 65% - et d(ApG) moins nombreux - 25%) et en proportion bien plus restreinte des pontages 1,3 intra-caténaires et 1,3 inter-caténaires (Figure 118B) [225, 227-229]. La cytotoxicité des complexes est attribuée à la formation des adduits GG majoritaires, induisant une forte torsion de l'ADN (Figure 118C). Leur reconnaissance et l'activation des voies de dommages à l'ADN induisent une cascade d'évènements cellulaires conduisant à l'apoptose [218, 230, 231, 232]. Si les voies de réponse cellulaire aux dommages causés par les complexes de platine ont été abondamment étudiées [231, 233], leur mécanisme d'action n'est pas encore totalement élucidé et leurs cibles biologiques sont loin d'être intégralement identifiées.

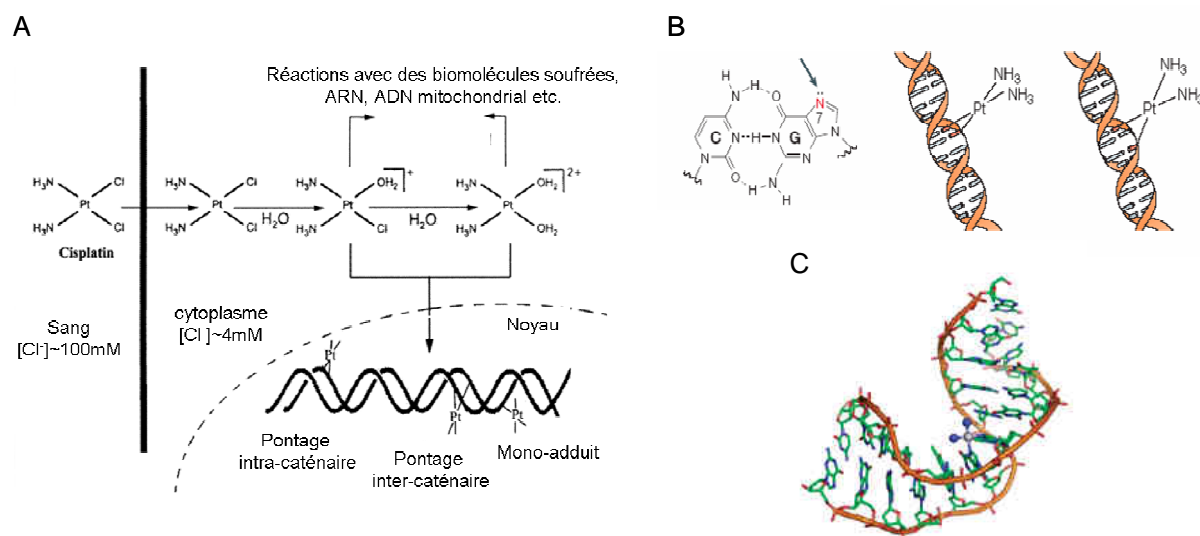


Figure 118. **A.** Hydrolyse du cisplatine dans la cellule (tiré de [234]). **B.** position N7 de la guanine et formation d'adduits du cisplatine avec l'ADN (d'après [229]). **C.** Effet sur l'ADN d'un pontage 1,2 intra-caténaire d(GpG) (d'après [231]).

De nouvelles stratégies ont été développées plus récemment pour obtenir une distribution plus ciblée des complexes ou encore pour moduler leur activité [235, 236]. Ce dernier objectif peut être atteint par exemple à travers le développement de molécules hybrides bi-fonctionnelles ou 'conjugués', *i.e.* un complexe de platine lié à une molécule interagissant spécifiquement avec une entité biologique (récepteurs, ADN etc.) [218]. Ces composés ciblés peuvent ainsi montrer un mode de liaison différent et plus sélectif. Dans la famille de conjugués présentant un intercalant de l'ADN, on peut citer le (1,2-diaminoéthane)dichloroplatinum(II) lié à l'acridine orange par une chaîne hexaméthylène [237] ou le Pt-ACRAMTU (présenté dans l'introduction de cette partie, §III.1.4) (Figure 119). Les interactions de ce dernier avec l'ADN sont dirigées par le motif intercalant [238]. Ces 'conjugués' constituent ainsi une nouvelle stratégie pour la conception de molécules bi-fonctionnelles se liant à l'ADN de manière spécifique et visant la limitation des effets secondaires par amélioration du ciblage.

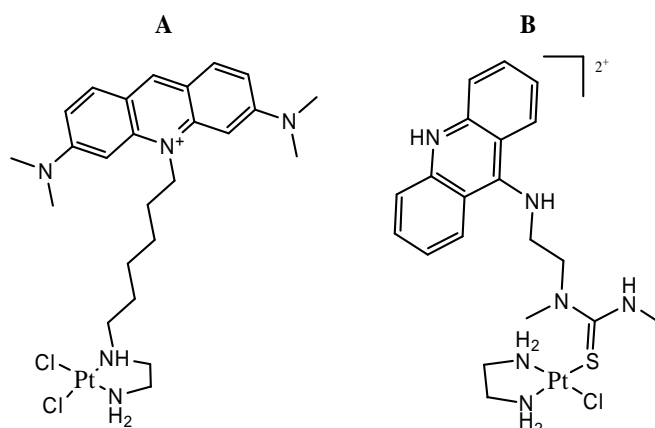


Figure 119. Exemples de conjugués : **A.** (1,2-diaminoéthane)dichloroplatinum(II) lié à l'acridine orange par une chaîne hexaméthylène **B.** Pt-ACRAMTU

I.2. Interaction du cisplatine et de quelques dérivés avec l'ADN télomérique et la télomérase

Constitué de répétitions de blocs de trois guanines adjacentes, l'ADN télomérique est une cible potentielle des complexes de platine. Il a été montré que de longs télomères étaient associés à une résistance au cisplatine dans des cellules de mélanome [239]. L'interaction avec l'ADN télomérique pourrait donc jouer un rôle conséquent dans la sensibilité et/ou la résistance au cisplatine, dépendant de la longueur des télomères. Une étude sur d'autres lignées cellulaires infirme cependant cette hypothèse [240]. Par ailleurs, l'analyse *in vitro* de la fixation des protéines TRF1 et TRF2 sur la séquence télomérique $(T_2AG_3)_4/(C_3TA_2)_4$ platinée par le cisplatine sur un site GGG défini montre que la présence de cet adduit diminue notablement l'affinité de TRF2 (et dans une moindre mesure de TRF1) pour la séquence télomérique [241]. Ces résultats suggèrent donc que la probable platination des télomères par le cisplatine dans les cellules cancéreuses pourrait influencer la fixation de TRF2 sur ceux-ci et ainsi affecter leur intégrité.

Les effets du cisplatine sur la longueur des télomères ont également été étudiés. Un raccourcissement des télomères est observé dans certaines lignées cellulaires : cellules Hela [242] ou d'hépatome [243]. Ce raccourcissement rapide (observé après un à trois cycles de réplication) semble incompatible avec une inhibition directe de la télomérase induisant une perte progressive des télomères. Ceci suggère donc, comme pour les ligands de G-quadruplexe, un mécanisme de déprotection des télomères et/ou d'inhibition de leur réplication. Cependant, une étude plus récente conclut que le cisplatine n'a aucun effet sur la longueur des télomères chez trois lignées cellulaires (cellules de neuroblastomes, HeLa et de

leucémies aïgues lymphoblastiques), indépendamment de leur longueur initiale [240]. L'ensemble de ces études ne permet donc que de proposer une possible interaction du cisplatine avec les télomères, qui pourrait dépendre de la sensibilité à cet agent des lignées cellulaires testées.

Comme décrit dans l'introduction de cette partie, la télomérase est constituée d'une sous unité catalytique hTERT et d'un ARN matrice hTR. Certaines régions de cet ARN sont accessibles et constituent donc des cibles pour des inhibiteurs de télomérase. L'impact de certains complexes de platine sur l'activité de cette enzyme a donc été évalué *in vitro* en test TRAP [244]. En particulier, de nouveaux complexes comportant des amines aromatiques comme ligands (pyridine ou isoquinoline) ont été développés et étudiés pour leur interaction avec la télomérase [245-247]. Une inhibition de celle-ci a été observée avec certains d'entre eux, suggérant une platination de hTR, bien qu'une interaction avec certains acides aminés essentiels de hTERT ne soit pas à exclure. Il est par ailleurs à noter que le test TRAP n'est pas bien adapté à l'étude de complexes de platine, le temps d'incubation utilisé n'étant pas nécessairement suffisant pour l'hydrolyse totale des complexes fournissant les espèces actives.

Par ailleurs, un traitement au cisplatine induit une diminution de l'activité télomérase dans certaines cellules (cellules de cancer du testicule chez l'homme [248], cellules d'hépatome [247], ou cellules du cancer du sein en culture [249]) mais aucun effet n'est visible dans d'autres lignées (cellules cancéreuses hématopoïétiques [250] ou cellules de cancer de l'ovaire [251]). Enfin, de nombreuses études ont été menées pour examiner la relation entre la télomérase, les dysfonctions télomériques et la vulnérabilité à l'apoptose induite par le cisplatine [252]. Elles indiquent que la télomérase pourrait moduler la réponse cellulaire à un traitement par des agents affectant l'intégrité de l'ADN.

En conclusion, il est envisageable qu'une part de l'activité anti-cancéreuse des complexes de platine (et en particulier le cisplatine) provienne de la formation d'adduits au niveau des télomères, perturbant ainsi leur structure et donc leur intégrité. Il est aussi possible qu'ils se fixent à l'ARN matrice de la télomérase hTR, interférant directement avec l'activité de l'enzyme. L'effet des complexes de platine au niveau des télomères n'est cependant toujours pas élucidé malgré les nombreux travaux entrepris.

I.3. Interaction des complexes de platine avec les G-quadruplexes.

Nous avons présenté en introduction (§III.1.4 p123) les complexes de platine spécialement développés en tant que ligands de G-quadruplexe. Ces derniers n'ont été décrits que très récemment et n'ont pas été étudiés pour leurs propriétés de platination des G-quadruplexes. Nous rappelons ici les études menées dans le groupe de S. Bombard sur la platination de ces structures et les informations fournies en conséquence. Dans les guanines associées en quartet, la position N7, site privilégié de coordination du Pt(II), est impliquée dans le réseau de liaisons hydrogène. Ces guanines devraient donc être protégées de la platination. Une première étude, réalisée sur deux structures G-quadruplexes de la séquence télomérique de *Tetrahymena* (T₂G₄)₄ présentant des guanines dans les boucles T₂G (en plus des quartets), a en effet révélé que le complexe monofonctionnel [Pt(II)(NH₃)₃(H₂O)]²⁺ platinait uniquement les quatre guanines des boucles. Les différentes proportions de platination observées ont été corrélées à l'accessibilité relative des N7 de ces guanines. Cela montre que ce complexe [Pt(II)(NH₃)₃(H₂O)]²⁺ constitue un bon outil pour examiner l'accessibilité des sites nucléophiles des purines dans ces structures [253]. La platination par ce même complexe des structures G-quadruplexes de la séquence télomérique humaine AG₃(T₂AG₃)₃ a alors été analysée. De manière surprenante, en plus des quatre adénines des boucles, certaines guanines impliquées dans les quartets sont accessibles à la platination. Des simulations en dynamique moléculaire réalisées sur les structures parallèle et antiparallèle (mais pas sur la structure hybride qui n'avait pas encore été identifiée au moment de l'étude) révèlent la flexibilité de ces structures et permettent ainsi d'expliquer ces résultats. Dans la structure anti-parallèle, le quartet situé du côté de la boucle diagonale est flexible et peut se désorganiser, permettant la platination des guanines G2, G10, G14 et G22 (Figure 120A). De la même façon, dans la structure parallèle, les guanines G8 et G20 du quartet en 5' peuvent être labiles et platinées (Figure 120B). Les complexes de platine difonctionnels (*i.e.* avec deux ligands labiles) *cis* et *trans*-[Pt(II)(NH₃)₂(H₂O)₂]²⁺ induisent par ailleurs des pontages entre deux adénines (A1-A13, A7-A19) ou entre une adénine et une guanine (A1-G10, A13-G22). En raison de la distance séparant les nucléotides impliqués, ces pontages ne peuvent se produire que dans la structure anti-parallèle [148]. L'utilisation d'un complexe dinucléaire [{*trans*-PtCl(NH₃)₂}]₂H₂N(CH₂)_nNH₂]Cl₂ (n=2 or 6), présentant deux unités platine reliées par une chaîne aminée flexible de différentes longueurs, permet la formation de pontages entre deux guanines du quartet flexible en 5' : G8-G10 et G2-G20 dans la structure parallèle et G2-G10, G10-G22 et G2-G14 dans la structure anti-parallèle [147].

Ainsi, les structures G-quadruplexes dérivées de la séquence télomérique humaine sont des cibles pour les complexes de platine et, contrairement à ce que laissait envisager leur implication dans la constitution des tétrades, certaines guanines peuvent être platinées, révélant la flexibilité de ces structures.

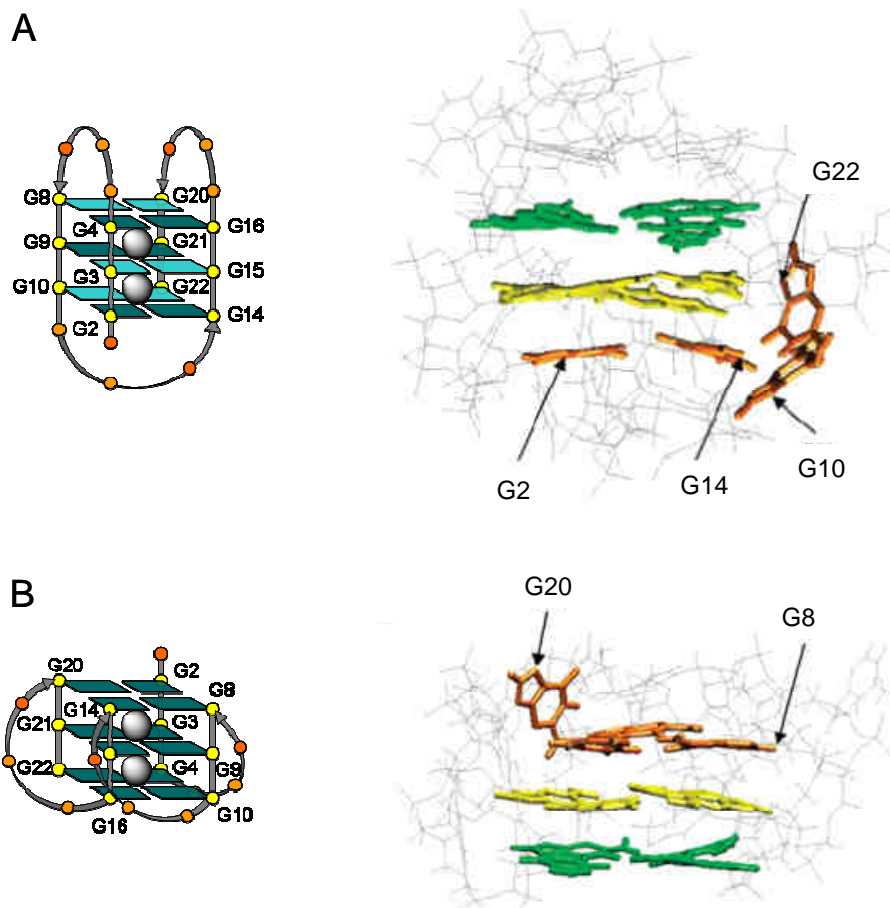


Figure 120. Structures G-quadruplexes anti-parallèle (**A**) et parallèle (**B**) de séquence $AG_3(T_2AG_3)_3$: représentations schématiques et conformations déterminées par dynamique moléculaire. Les guanines indiquées peuvent être labiles, rendant leur position N7 accessible à la platination.

II. Platination des G-quadruplexes par les complexes de terpyridine.

II.1. Réactions de platination et analyses des sites de fixation

Nous avons étudié les complexes de platine décrits au chapitre précédent **Pt-tpy 24**, **Pt-ttpty 25** et **Pt-ctpy 26** pour leurs propriétés de platination des G-quadruplexes formés par la séquence télomérique humaine $[5'-AG_3(T_2AG_3)_3-3']$ (22AG). Notons que les études de

FRET-melting et de G4-FID présentées au chapitre 2 ne reflètent que les interactions non covalentes des composés avec les G-quadruplexes et ne peuvent pas mettre en évidence les phénomènes de platination. L'étape initiale d'hydrolyse des complexes, cinétiquement limitante et nécessitant une incubation longue à 37°C, ne peut en effet pas avoir lieu dans les conditions expérimentales employées.

Les complexes sont incubés avec le 22AG structuré en G-quadruplexe et marqué au ^{32}P en 5' à 37°C pendant une nuit. Par réaction avec l'oligonucléotide, les complexes de platine peuvent se lier au 22AG par coordination, formant des adduits très stables quasi-covalents, ou interagir avec la structure de manière réversible (complexes non covalents). Les produits de la réaction d'incubation sont analysés par migration sur gel d'acrylamide (15%) en conditions dénaturantes. Ces conditions permettent d'observer exclusivement des adduits de platination et de séparer les différents adduits formés. L'emploi de conditions non-dénaturantes, en revanche, ne permet pas de distinguer les adduits de platination des complexes non-covalents. Les réactions de platination sont réalisées sur l'oligonucléotide 22AG structuré en présence de sodium (50mM NaClO_4) ou de potassium (50mM KClO_4). Les résultats obtenus sont identiques quelles que soient les conditions ioniques ; nous ne présentons donc ici que les analyses réalisées en conditions sodium.

Le gel de platination révèle, pour les trois complexes testés, la formation d'une bande majoritaire de migration (I) légèrement retardée par rapport au 22AG non platiné (Figure 121), indiquant la formation d'un adduit covalent entre le 22AG et les composés **24-26**. Dans le cas des complexes **Pt-tpy 24** et **Pt-ctpy 26**, une deuxième bande de migration plus retardée (II) est observée (Figure 121) ; celle-ci reflète l'existence d'un second produit de di-platination minoritaire. L'aptitude des complexes de platine **24-26** à créer des liaisons quasi-covalentes avec les structures G-quadruplexes est donc démontrée ici.

L'observation de bandes de migrations retardées par rapport au 22AG seul indique que les adduits formés ne restent pas structurés en conditions dénaturantes. La fixation d'un complexe de platine sur l'oligonucléotide induit une augmentation de masse et de charge sur ce dernier, ralentissant légèrement sa migration. Notons que le maintien d'une forme structurée dans ces conditions dénaturantes se traduirait par une migration accélérée des bandes correspondantes, la compacité de l'oligonucléotide étant également un paramètre influant fortement la migration des adduits.

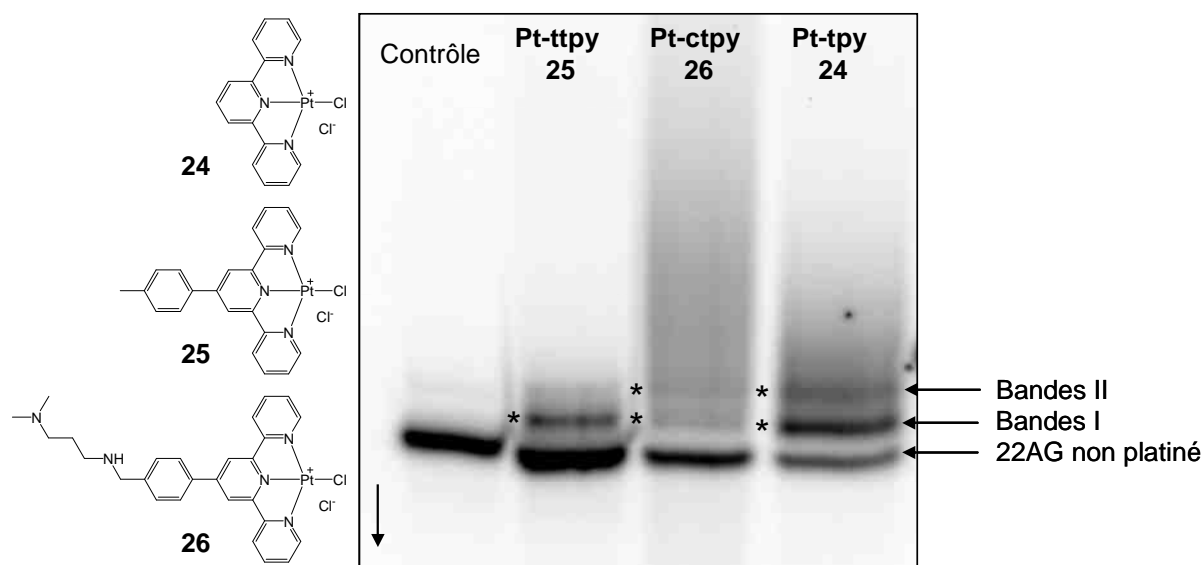


Figure 121. Gel d'électrophorèse en conditions dénaturantes de la platination de 22AG en conditions sodium par les complexes de terpyridines **24-26**. Contrôle : 22AG seul. La flèche indique le sens de migration, les * indiquent l'emplacement des bandes I et/ou II observées pour chaque complexe.

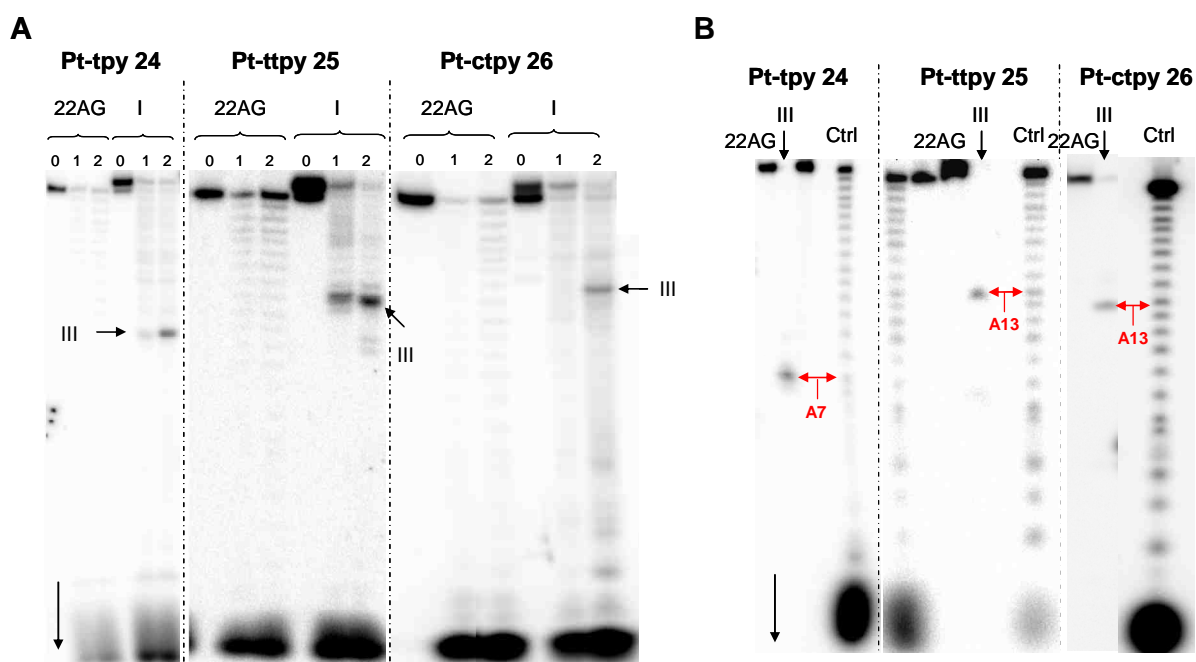
Ces bandes de migrations retardées sont ensuite récupérées et les adduits platinés correspondant analysés par migration sur gel d'électrophorèse après digestion enzymatique afin de déterminer les bases ayant été platinées. La digestion par la 3'-exonucléase est en effet stoppée par les bases platinées ; les arrêts de digestion observés permettent donc de déterminer le nombre de sites platinés et la localisation de ces derniers. Nous détaillons ci-dessous les résultats obtenus pour chaque complexe **24-26**, les gels d'électrophorèse correspondant étant présentés en Figure 122A (par souci de clarté, seules les analyses des bandes I de platination sont présentées ici, les gels d'électrophorèse présentant l'analyse complète des bandes I et II se trouvent en annexe H).

- **Pt-tpy 24**: la digestion enzymatique de la bande I de platination conduit à un unique arrêt, indiquant qu'une seule base de 22AG est platinée. Cette bande d'arrêt de digestion (III, Figure 122A) est isolée, le fragment est alors déplatiné par un traitement au NaCN et est enfin soumis à une nouvelle migration sur gel d'électrophorèse en conditions dénaturantes. La migration observée peut être alors comparée aux références fournies par le 22AG partiellement digéré servant de contrôle, permettant de déterminer la taille de l'oligonucléotide digéré et donc d'identifier le site de platination. L'adénine A7 a ainsi été déterminée (Figure 122B); la bande I de platination correspond donc au 22AG platiné en position A7 avec un rendement d'environ 40% (déterminé par quantification du gel de platination au phosphorimager (Imagequant)).

La même analyse sur la bande de migration la plus retardée II (Figure 121) conduit à l'observation de deux arrêts de digestion correspondant à des sites de platination en A7 et en A13. Le produit de cette bande II est donc platiné en positions A13 et A7. Celui-ci résulte probablement de la platination du mono-adduit en A7. Le rendement de cette di-platination est estimé à environ 30%.

- **Pt-ttpty 25**: ce complexe est caractérisé par la formation d'une unique bande de platination (I) avec un rendement d'environ 35%. L'analyse de cette bande indique un unique site de platination sur l'adénine A13 du 22AG.

- **Pt-ctpy 26**: l'analyse de la bande I de mono-platination, formée par ce complexe avec un rendement plus faible d'environ 10%, conduit à l'identification de l'adénine A13 comme premier site de platination. La bande de di-platination II formée à environ 10% correspond quant à elle à un adduit di-platiné en positions A13 et A7.



II.2. Discussion et conclusions

Nous avons étudié ici la platination des structures G-quadruplexes par les complexes terpyridine-platine **24-26**. Les analyses sur gel d'électrophorèse en conditions dénaturantes ont révélé la capacité de ces trois ligands à platiner ces structures. Dans les trois cas, des bandes de migrations retardées sont observées indiquant que les adduits formés sont déstructurés en conditions dénaturantes. La platination des G-quadruplexes par ces complexes n'entraîne pas une stabilisation suffisante pour que la structure soit conservée dans ces conditions.

Des expériences de digestion enzymatique couplées à des analyses par gel d'électrophorèse ont montré que les complexes de platine **24-26** ne platinent que deux adénines de 22AG. Ces observations indiquent tout d'abord que la platination s'effectue sur les structures G-quadruplexes du 22AG. En effet, dans le cas contraire, toutes les bases platinables (G et A) auraient réagi. Ces trois complexes présentent par ailleurs de grandes différences en termes d'efficacité et de comportement de platination. Le composé **Pt-tpy 24**, possédant la surface aromatique la moins étendue, platine préférentiellement A7 et présente A13 comme deuxième site de fixation. Les complexes **Pt-ttpp 25** et **Pt-ctpp 26**, de surface aromatique plus large, platinent en revanche A13 exclusivement (pour **25**) ou avec une préférence très marquée (pour **26**).

Les profils de platination révélés sont identiques en conditions sodium ou potassium. Notons que, quelles que soient les conditions ioniques, plusieurs structures G-quadruplexes coexistent en solution. De plus, la platination de ces structures par les complexes **24-26** ne s'effectue pas de manière quantitative. On peut donc envisager que les complexes de platine ne peuvent piéger qu'une forme G-quadruplexe.

Etant donné, d'une part, que des données de platination sont accessibles pour les structures G-quadruplexes antiparallèle et parallèle mais pas pour la forme hybride et que, d'autre part, les conditions sodium favorisent le repliement anti-parallèle du G-quadruplexe [7], nous avons utilisé cette structure pour nos interprétations.

Dans cette structure, l'adénine A7 appartient à une boucle latérale au voisinage du quartet externe G4-G8-G16-G20 tandis que l'adénine A13 est localisée dans la boucle diagonale entourant le quartet externe opposé. Au vu des résultats de FRET-melting ($\Delta T_{1/2}=1.1^{\circ}\text{C}$) et de G4-FID (${}^{\text{G4}}\text{DC}_{50}(\text{22AG K}^+)=1.46\mu\text{M}$) du ligand **Pt-tpy 24**, ce composé ne doit pas interagir par stacking avec les G-quartets. On peut dès lors envisager que **Pt-tpy** piège les bases les plus accessibles de la structure. Celles-ci seraient ici les adénines des boucles A7 et A13. Des

études de modélisation moléculaire supportent cette hypothèse : il a en effet été montré que la position N7 des adénines A7 et A13 dans la structure anti-parallèle est largement plus accessible que celle des adénines A19 et A1 respectivement [147]. Il faut enfin souligner que, contrairement au $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_3(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ qui n'a aucune affinité pour les G-quadruplexes, **Pt-tpy 24** ne platine pas les guanines. Ceci peut être dû à l'encombrement introduit par le ligand terpyridine.

Les complexes **Pt-ttpy 25** et **Pt-ctpy 26**, en revanche, stabilisent les G-quadruplexes avec $\Delta T_{1/2}=11.3$ et 16.2 °C respectivement. On peut alors proposer que ces ligands interagissent par stacking avec le G-quartet externe de plus haute affinité et platinent ensuite les bases accessibles situées à proximité, *i.e.* les adénines des boucles. Ainsi, **Pt-ttpy 25** et **Pt-ctpy 26** interagiraient préférentiellement avec le quartet G2-G10-G14-G22 entouré par la boucle diagonale (Figure 123). Il a déjà été proposé que les boucles diagonales stabilisent l'interaction des ligands avec les structures G-quadruplexes [85]. L'interaction de **25** et **26** avec ce quartet conduit à la platination exclusive de l'adénine A13, dont la plus grande accessibilité par rapport à A1 a également été démontrée [147].

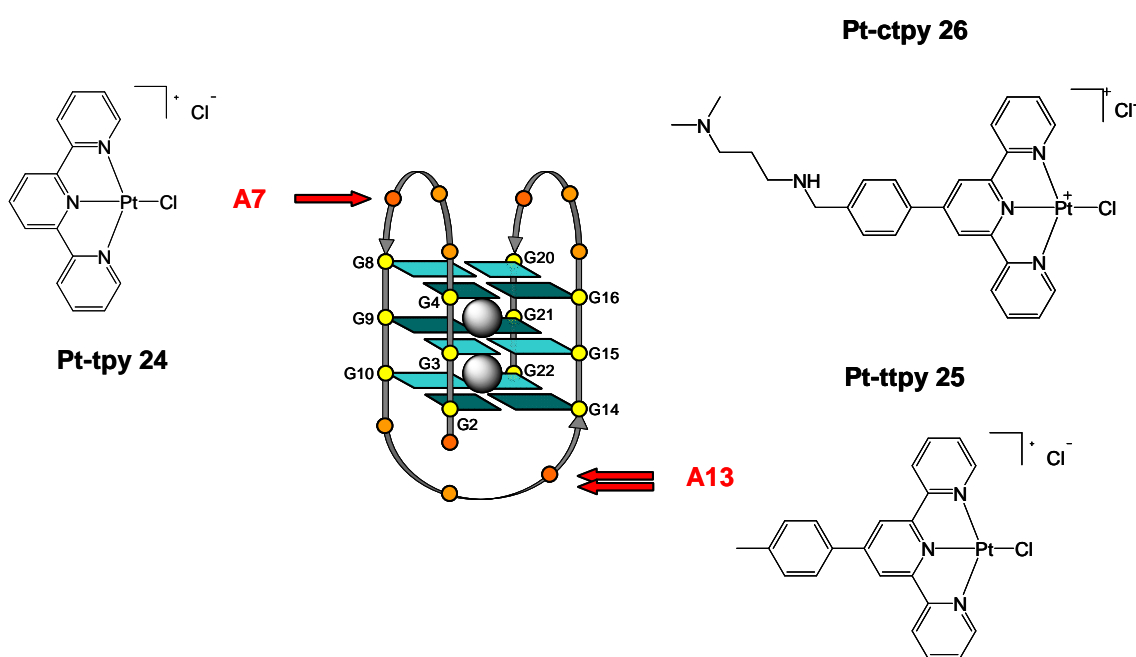


Figure 123. Représentation schématique de la structure anti-parallèle de 22AG. Les flèches rouges indiquent les sites de platination préférentiels des complexes **Pt-tpy 24**, **Pt-ttpy 25** et **Pt-ctpy 26**.

En conclusion, les complexes de platine étudiés **24-26** permettent une platination sélective des boucles des structures G-quadruplexes, gouvernée par l'aptitude des ligands à interagir avec ces structures. Ainsi le profil de platination observé pour le complexe **Pt-ttpy** serait la

conséquence de la reconnaissance privilégiée du quartet entouré d'une boucle diagonale. Il serait intéressant de réaliser des études complémentaires (par RMN par exemple) pour confirmer le mode d'interaction de ce complexe avec les structures G-quadruplexes proposé ici.

III. Hybrides Quinacridine-Platine pour le piégeage de structures G-quadruplexes.

Dans les complexes de terpyridines présentés précédemment, le motif platine monofonctionnel est directement intégré dans la structure du ligand de G-quadruplexe. Nous avons utilisé une seconde approche, consistant à développer des complexes hybrides ou 'conjugués' dans lesquels les motifs ligand de G-quadruplexe et unité platine sont séparés par une chaîne flexible. Ces molécules hybrides devraient interagir avec ces structures selon un mode double : reconnaissance des G-quartets par la partie ligand de G-quadruplexe et immobilisation du composé dans l'ADN par platination des bases accessibles assurée par l'unité platine. Comme énoncé dans l'introduction de ce chapitre, cette stratégie a démontré son efficacité dans le contexte des agents ciblant les duplexes d'ADN. Ces 'conjugués' quinacridine/Pt devraient avoir des propriétés optimisées en termes de stabilisation d'ADN quadruplexe.

III.1. Conception des hybrides Quinacridine-Platine.

Les quinacridines [92], hétérocycles aromatiques coudés, sont de bons ligands d'ADN G-quadruplexe (voir Partie 2, Introduction, §III.1.2). Leurs propriétés proviennent d'un fort recouvrement des G-quartets externes (trois des quatre guanines qui les constituent). Nous avons donc dans un premier temps choisi d'utiliser ce motif quinacridine comme base pour nos complexes hybrides ; ce dernier devrait interagir avec le quartet externe de plus grande affinité. De manière à stabiliser irréversiblement le G-quadruplexe, l'unité platine doit alors pouvoir atteindre le quartet externe opposé et éventuellement les adénines de la boucle le voisinant. La chaîne reliant les deux motifs doit donc posséder une longueur minimale correspondant à l'empilement des trois quartets constituant la structure G-quadruplexe, soit environ 12Å (distance déterminée à partir de la structure RMN du G-quadruplexe AG₃(T₂AG₃)₃ en présence d'ions sodium, Figure 124A). Le premier ligand hybride **Pt-MPQ**

a été conçu selon ces considérations (Figure 124B). La synthèse et l'étude de ce premier composé, validant notre approche, seront présentées dans un premier temps.

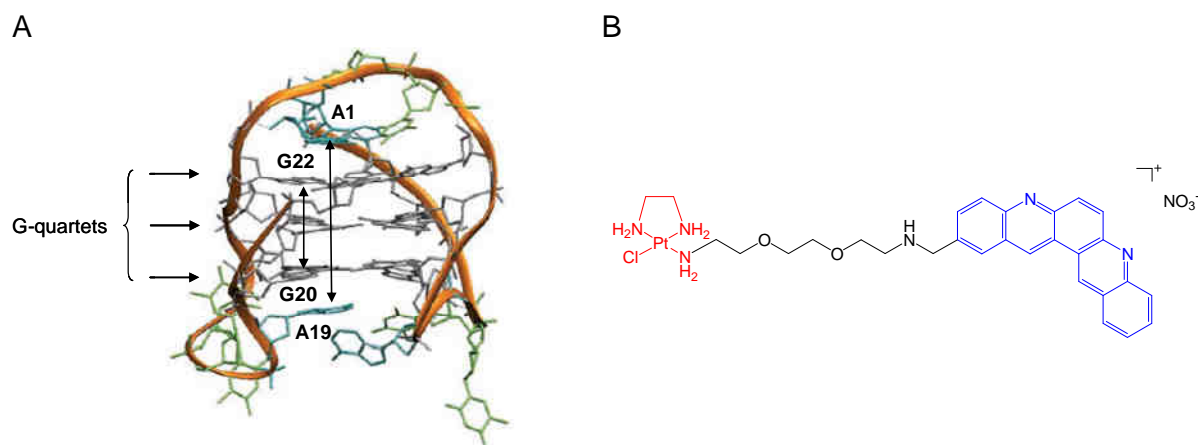


Figure 124. A. Structure anti-parallèle de $AG_3(T_2AG_3)_3$ déterminée par RMN (d'après [7]). Distances : $G_{20}-G_{22} = 7.1\text{\AA}$, $A_1-A_{19} = 16\text{\AA}$, soit $G_{22}-A_1 \approx 4.5\text{\AA}$. B. Structure chimique de **Pt-MPQ**.

Nous avons par la suite développé cette famille de 'conjugués' en faisant varier la longueur de la chaîne : l'utilisation de chaîne courtes devrait en particulier permettre la platination des adénines des boucles voisinant le quartet reconnu par le motif quinacridine. Ces conjugués pourront également jouer le rôle de sondes de structure.

III.2. Synthèse et étude du premier hybride Pt-MPQ.

III.2.1. Synthèse

Il s'agit tout d'abord de synthétiser le motif quinacridine, ici une *para*-quinacridine monosubstituée sur un cycle latéral. La synthèse de ces hétérocycles aromatiques a été largement développée au laboratoire [92] et a servi de base dans la conception de la synthèse des TrisKs (présentée en Partie 1). L'étape clé du protocole réside usuellement dans une réaction de double amination arylique catalysée au Pd ou au Cu. La quinacridine désirée ici étant dissymétrique, deux couplages par aminations d'halogénure d'aryle successifs sont nécessaires (Schéma 12). Le produit de monosubstitution, l'acide 2-(4-iodophenylamino)-5-methylbenzoïque **29** est ainsi obtenu par un couplage catalysé au cuivre entre l'acide 2-amino-5-méthyl-benzoïque et le 1,4-diiodobenzène en excès (réaction d'Ullmann-Goldberg). Après estérification méthylique de cet intermédiaire **29**, un second couplage catalysé au Pd (système

catalytique $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, $\text{P}(\text{tBu})_3$, Cs_2CO_3 , identique à celui présenté en Partie 1) fournit le diester dissymétrique **31** avec un rendement sur trois étapes de 38%.

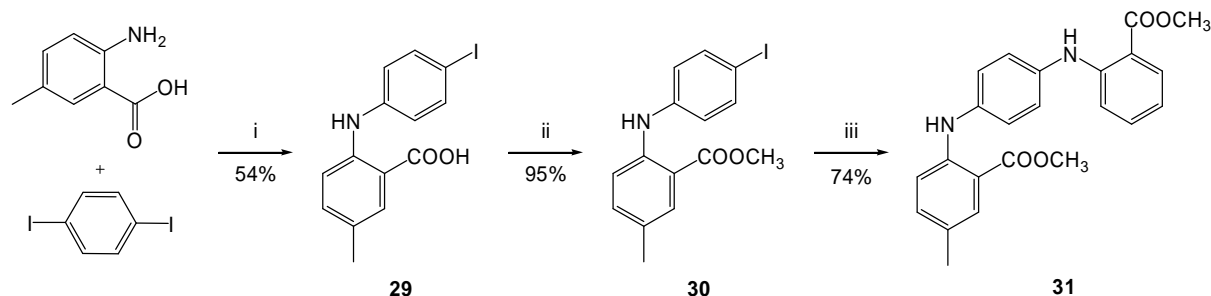


Schéma 12. Synthèse du diester dissymétrique **31**. Conditions et réactifs : i. CuI (0.1 équiv.), Cu (0.1 équiv.), K_2CO_3 (1.0 équiv.), pentanol, reflux, 16hrs ; ii. MeOH , H_2SO_4 , reflux, 16hrs ; iii. anthranilate de méthyle 1.2 équiv., $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.05 équiv.), $\text{P}(\text{tBu})_3$ (0.15 équiv.), Cs_2CO_3 (2.0 équiv.), toluene, reflux, 40hrs.

Après saponification de ce diester **31** par de la soude à 5% dans l'acétone, le diacide **32** obtenu est cyclisé dans le POCl_3 . Ici, un reflux de 3.5 heures est suffisant pour cette double cyclisation et le dérivé di-chloré **33** est isolé avec un rendement de 80%. La réduction de cet intermédiaire chloré par LiAlH_4 conduit à un mélange du composé 2-méthyl-dibenzophénanthroline (2-méthyl-*para*-quinacridine) **34** attendu et des produits hémi-réduits en position *para* des azotes. La réaromatisation (ou ré-oxydation) du système par le triphénylcarbénium tétrafluoroborate dans l'acide acétique fournit la 2-méthyl-*para*-quinacridine **34** avec un rendement de 67%. Enfin, l'intermédiaire clé 2-carboxaldéhyde-*para*-quinacridine **35** est obtenu avec un rendement de 77% par oxydation du méthyle de **34** en aldéhyde par traitement au SeO_2 dans le naphthalène [254] (Schéma 13).

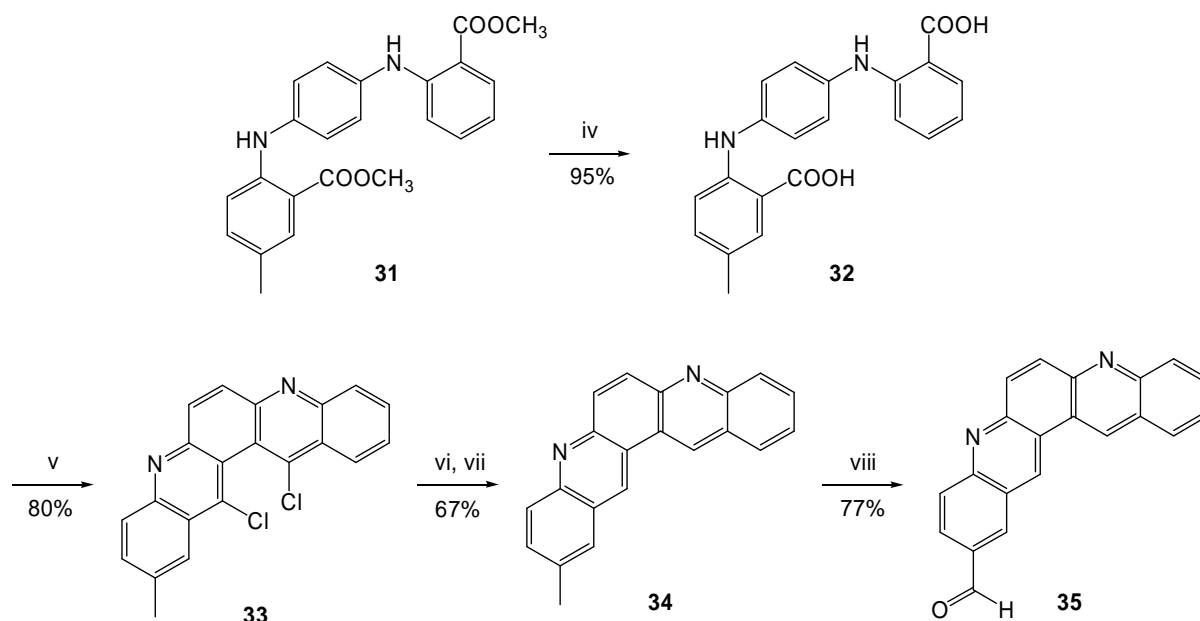


Schéma 13. Synthèse de la 2-carboxaldéhyde-*para*-quinacridine **35**. Conditions et réactifs : iv. NaOH 5%, acétone ; v. POCl₃, reflux, 3.5hrs ; vi. LiAlH₄, THF, reflux, 16hrs ; vi. (C₆H₅)₃C⁺BF₄⁻ (1.15 équiv.), AcOH, reflux, 10min ; viii. SeO₂ (1.2 équiv.), naphthalene, 200°C, 3hrs.

La stratégie employée pour la suite de la synthèse consiste à greffer la chaîne flexible choisie sur le motif quinacridine et d'introduire l'unité platine en dernière étape. La 2,2'-(éthylènedioxy)bis(éthylamine) a été choisie ici comme espaceur ; sa longueur d'environ 12Å étant en effet parfaitement adaptée à notre concept. De plus, les motifs PEG sont connus pour accroître la solubilité en milieu aqueux des molécules aromatiques, élément essentiel en particulier lors de l'utilisation de quinacridines. Cette diamine, préalablement mono-protégée par un groupement ^tBoc (composé **36**), est condensée sur la 2-carboxaldéhyde-*para*-quinacridine **35** dans des conditions classiques d'amination réductrice, utilisant le tri-acétoxyborohydrure de sodium comme réducteur. Le groupement ^tBoc porté par l'intermédiaire **37** ainsi obtenu est ensuite déprotégé en conditions acides et le chlorhydrate formé est neutralisé par un traitement au carbonate de césium. La présence d'une amine terminale neutre est en effet nécessaire pour l'introduction de l'unité platine. Le composé **38**, noté aussi **MPQ-PEG-NH2**, est synthétisé avec un rendement de 33% sur trois étapes (Schéma 14).

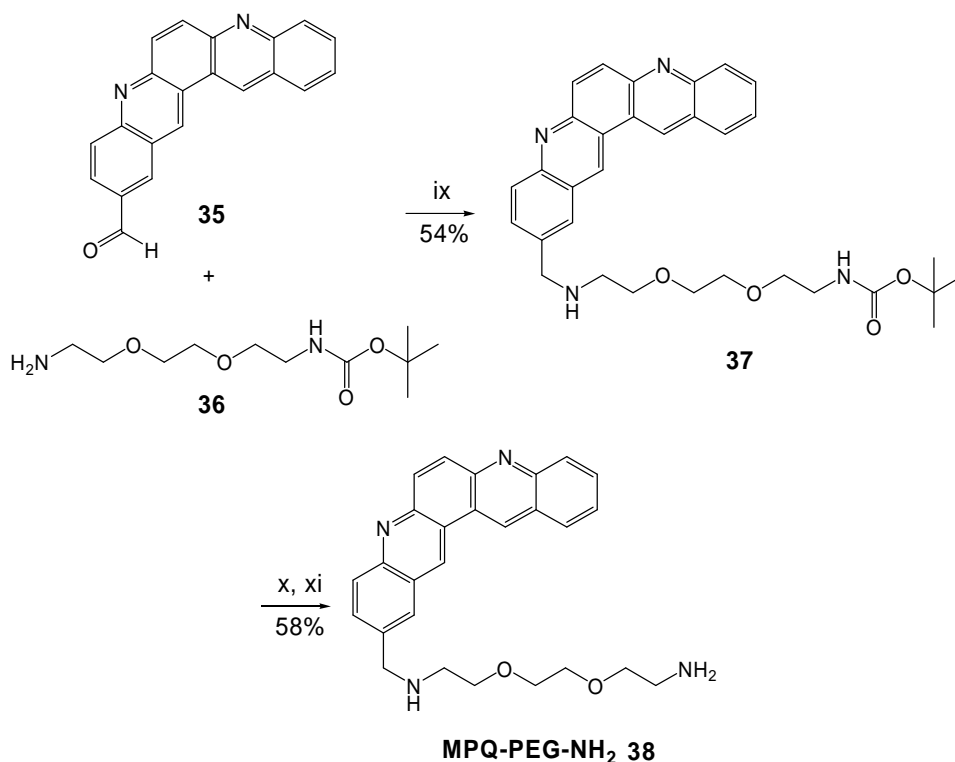


Schéma 14. Synthèse du composé **MPQ-PEG-NH₂ 38**. Conditions et réactifs : ix. Dichloroéthane (DCE), 40°C, 24hrs puis NaBH(OAc)₃, DCE, 40°C, 24hrs; x. MeOH/HCl, RT, 2hrs; xi Cs₂CO₃ (2.0 équiv.), CH₃CN/H₂O, RT, 10min.

Le complexe de platine précurseur Pt(éthylène diamine)Cl₂ **39** (ou Pt(en)Cl₂) est synthétisé à partir du tétrachloro-platinate de potassium. La séquence réactionnelle est basée sur des échanges de ligands successifs [255, 256] et fournit le complexe Pt(en)Cl₂ **39** avec un rendement global de 85% sous la forme de fines aiguilles jaunes (Schéma 15A). Une réaction avec un équivalent de chlorure d'argent dans le DMF forme l'espèce activée [Pt(en)(Cl)(DMF)]⁺ qui réagit *in situ* avec l'amine **MPQ-PEG-NH₂ 38** pour fournir l'hybride **Pt-MPQ 40** avec un rendement de 48% (Schéma 15B).

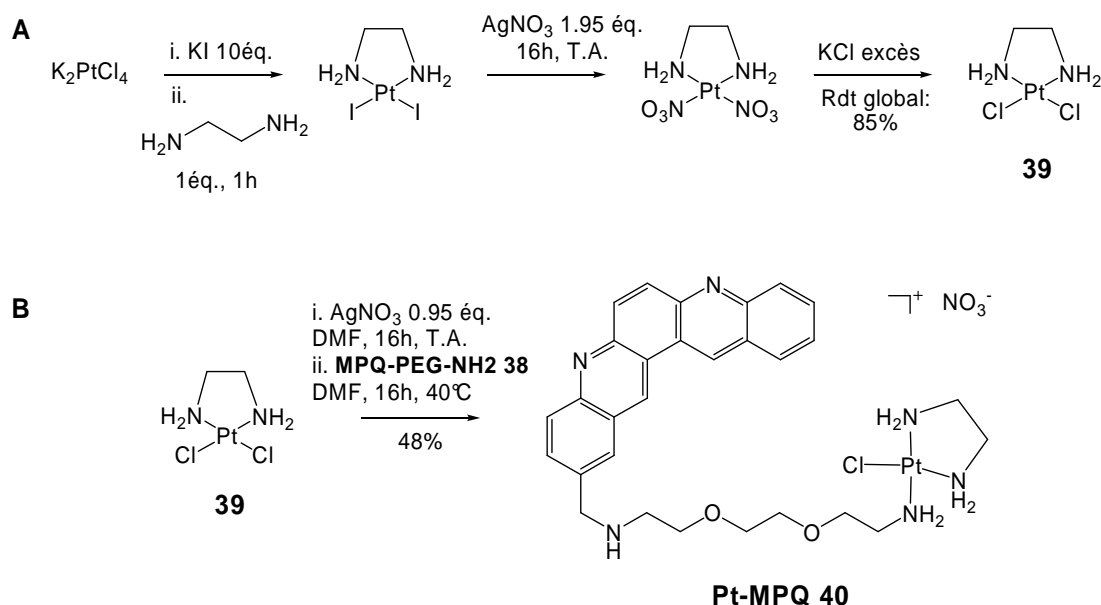


Schéma 15. A. Synthèse du précurseur **Pt(en)Cl₂ 39**. **B.** Synthèse de l'hybride **Pt-MPQ 40**.

III.2.2. Platination des structures G-quadruplexes par l'hybride Pt-MPQ.

Nous avons analysé la platination par le **Pt-MPQ 40** des structures G-quadruplexes formées par la séquence 22AG dérivée de la séquence télomérique humaine, en conditions riches en sodium ou en potassium. Après incubation à 37°C du 22AG radiomarqué avec le **Pt-MPQ 40**, les produits de réaction sont séparés par migration sur gel d'électrophorèse en conditions dénaturantes. Dans ces conditions, le composé non platiné **MPQ-PEG-NH₂ 38** est utilisé comme contrôle. Quelles que soient les conditions ioniques, quatre bandes ayant une migration différente de celle du produit de départ 22AG sont formées, indiquant que les structures G-quadruplexes ont été platinées par le **Pt-MPQ 40** (Figure 125). Deux d'entre elles migrent plus vite que le produit de départ (bandes 1 et 2, platination à 10-15% pour chacune), les deux autres sont des bandes retardées (bandes 3 et 4, platination à 15-20% pour chacune). Une troisième bande accélérée est également observée dans le cas de l'incubation en conditions potassium. Ce produit n'est cependant pas détecté systématiquement et dans une trop faible proportion (moins de 2%) pour permettre l'identification du site de platination correspondant.

Les bandes retardées 3 et 4 peuvent être attribuées à des adduits covalents destructurés, comme observé avec les complexes terpyridine-platine. La présence des bandes accélérées 1 et 2 (formées en conditions sodium et potassium) est représentative de la persistance de la structure G-quadruplexe en conditions dénaturantes. Ces structures étant plus compactes, leur

migration est plus rapide ; cela a déjà été observé dans le cas du pontage de ces structures par des complexes de platine di-fonctionnels [147].

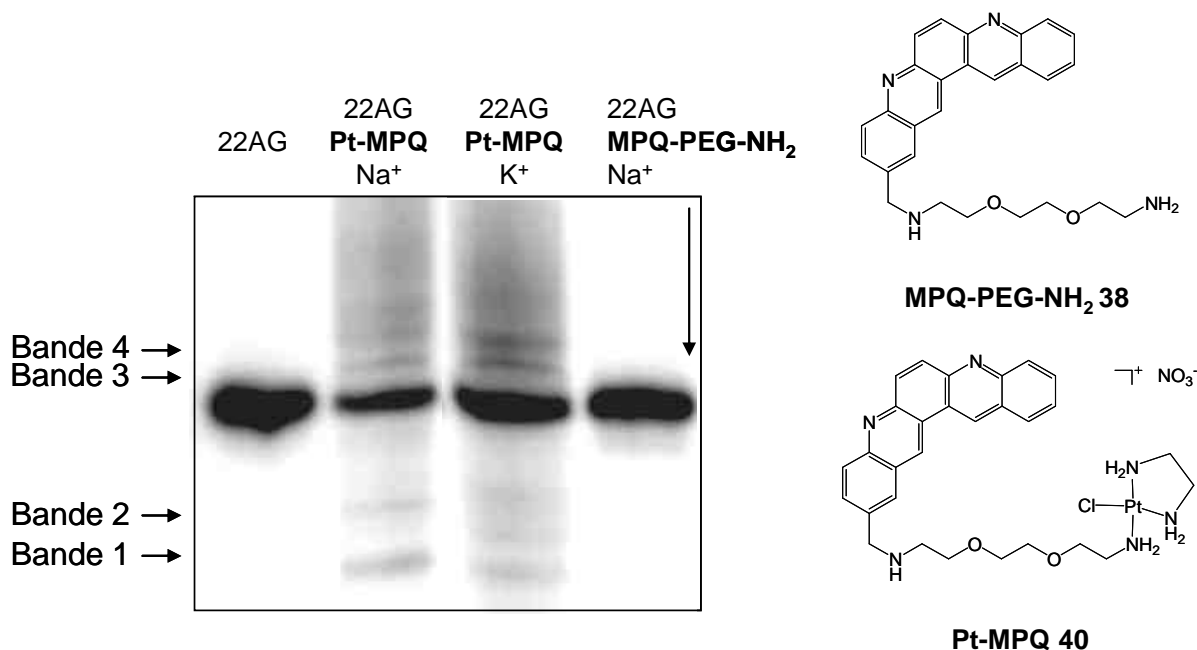


Figure 125. Gel d'électrophorèse en conditions dénaturantes (15% acrylamide) du 22AG et des produits de platination par **Pt-MPQ 40** en présence de sodium et de potassium. Le dernier puits à droite correspond au contrôle : incubation du 22AG avec le composé **MPQ-PEG-NH₂ 38** en conditions sodium. La flèche indique le sens de migration. Les structures chimiques des molécules **38** et **40** sont rappelées à droite.

Le **Pt-MPQ 40** étant un complexe de platine mono-fonctionnel, il ne peut pas stabiliser le G-quadruplexe par ce type de pontage entre deux purines rapprochées dans l'espace grâce à la structure. Par ailleurs, comme attendu, aucun produit d'interaction n'est détecté après incubation du 22AG avec le composé contrôle **38**. La présence simultanée du motif quinacridine et de l'unité platine [Pt(en)Cl] semble donc responsable de la persistance de la structuration en quadruplexe observée, indiquant une très haute aptitude de **Pt-MPQ** à stabiliser les G-quadruplexes.

Afin de déterminer la stabilité relative des adduits du 22AG avec le **Pt-MPQ 40**, les produits des bandes 1 et 2 (notés dorénavant I et II) sont isolés du gel et soumis à une nouvelle migration sur gel d'électrophorèse en conditions non dénaturantes, qui permettent la maintenance des structures G-quadruplexes (Figure 126) [147]. La migration plus lente du produit I comparé au 22AG natif peut être attribuée à une structure repliée, il est en effet connu que la fixation d'un complexe de platine sur un oligonucléotide introduit une charge

positive et un poids supplémentaires qui ralentissent la migration. La migration accélérée du produit II par rapport au 22AG natif indique que la structure de cet adduit est plus compacte que celle du 22AG seul. La structure du produit II est donc très stable et maintenue dans les conditions expérimentales utilisées. Cette expérience montre que, au moins dans le cas de ce produit II, l'hybride **Pt-MPQ 40** est capable de stabiliser le 22AG sous sa forme structurée.

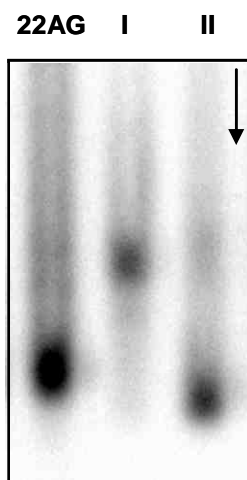


Figure 126. Gel d'électrophorèse en conditions non dénaturantes de 22AG et des produits I et II (isolés respectivement des bandes accélérées 1 et 2 du gel de platination). La flèche indique le sens de migration.

III.2.3. Analyse des sites de platination des G-quadruplexes par le Pt-MPQ

III.2.3.1. *Par clivage chimique : traitement au DMS/pipéridine*

Afin de déterminer les sites de platination du 22AG par le complexe **Pt-MPQ 40**, les produits des bandes 1 à 4 (notés I à IV) du gel de platination en conditions dénaturantes (Figure 125) sont isolés et analysés par un traitement au diméthylsulfate (DMS)/pipéridine. Le traitement au DMS/pipéridine permet d'identifier les éventuelles guanines platinées. En effet, le DMS méthyle les positions N7 libres des guanines et la pipéridine coupe ensuite l'oligonucléotide au niveau des guanines ainsi méthylées. Cela se traduit sur gel par la formation de bandes qui correspondent à des oligonucléotides plus courts coupés au niveau de ces guanines. Si une guanine est platinée, sa position N7 est liée au platine et ne réagit pas avec le DMS. Un site de platination sur une guanine se détecte donc par l'absence de bande sur le gel au niveau de cette base. Notons ici que dans les conditions de traitement DMS employées (concentration,

température), l'oligonucléotide platiné est déstructuré, rendant toutes les guanines non platinées susceptibles de réagir avec le DMS.

Le traitement DMS/pipéridine est suivi d'une déplatination au NaCN, nécessaire pour restaurer une migration des fragments identique au contrôle, ce qui permet d'identifier la localisation des sites de platination.

Le gel obtenu est présenté en Figure 127. Si l'on compare avec le contrôle (22AG, voie b), le produit I n'est pas coupé en position G22 (I, voie b) et le produit II n'est pas coupé en position G2 (II, voie b). Les produit I et II sont donc platinés sur les guanines G22 et G2 respectivement. Il est à noter que l'absence de bande au niveau de G2 peut être ambiguë puisque localisée en front de migration. Ces résultats ont donc été confirmés par digestion enzymatique (voir ci-dessous).

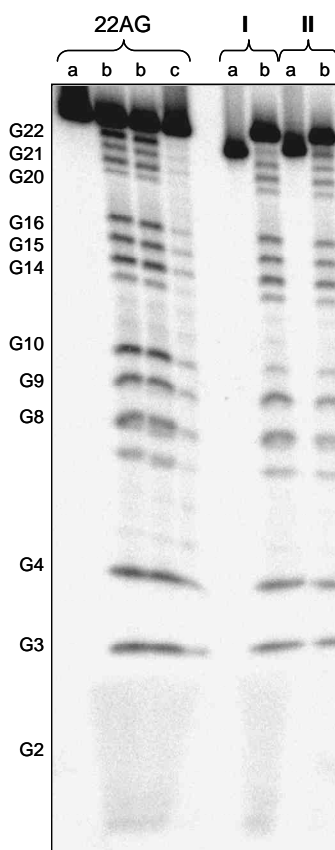


Figure 127. Gel d'électrophorèse en conditions dénaturantes du traitement DMS/pipéridine de 22AG et des produits de platination I et II. Voie a : pas de traitement (les produits I et II montrent donc une migration accélérée comme attendu pour ces produits platinés structurés), voie b : traitement DMS/pipéridine et déplatination au NaCN. Les produits I et II migrent donc comme le contrôle et l'intensité relative des fragments de coupure peut être comparée au cas de 22AG. On note l'absence de bande en G22 pour I et en G2 pour II.

Les sites de platination identifiés pour I et II sont les mêmes quelles que soient les conditions ioniques employées pour la formation de ces produits (sodium ou potassium), suggérant que le même repliement du 22AG a été piégé. Le profil de platination des produits III et IV n'a pas pu être identifié par cette méthode.

III.2.3.2. Par digestion enzymatique : 3'-exonucléase.

Nous avons réalisé une analyse par digestion enzymatique pour confirmer les résultats obtenus pour les produits I et II mais aussi pour déterminer les sites de platination des produits III et IV. Comme énoncé dans l'étude relative aux complexes de terpyridine, l'enzyme 3'-exonucléase est stoppée par les complexes de platine. Le site de platination peut donc être identifié à partir de la longueur du fragment digéré. Les différents arrêts de digestion observés après traitement par l'enzyme (Figure 128A) sont donc isolés, déplatifiés par NaCN et analysés (Figure 128B).

Aucune digestion n'est observée pour le produit I (Figure 128A), ce qui est en accord avec une platination en position G22, située à l'extrémité 3' de l'oligonucléotide 22AG. Ceci est confirmé par la déplatination de ce fragment non digéré (1, Figure 128B) et son analyse sur gel d'électrophorèse. Une migration identique au 22AG est en effet observée, reflétant une protection totale du produit à la digestion enzymatique par une platination sur sa position G22. La digestion du produit II conduit à la formation d'une bande d'arrêt de digestion (2, Figure 128A). Son analyse confirme la platination en position G2. Enfin, les positions G2, G10 et G22 sont identifiées comme des sites majoritaires de platination pour les produits III et IV. Ils peuvent donc être attribués à des adduits polyplatifiés en ces positions.

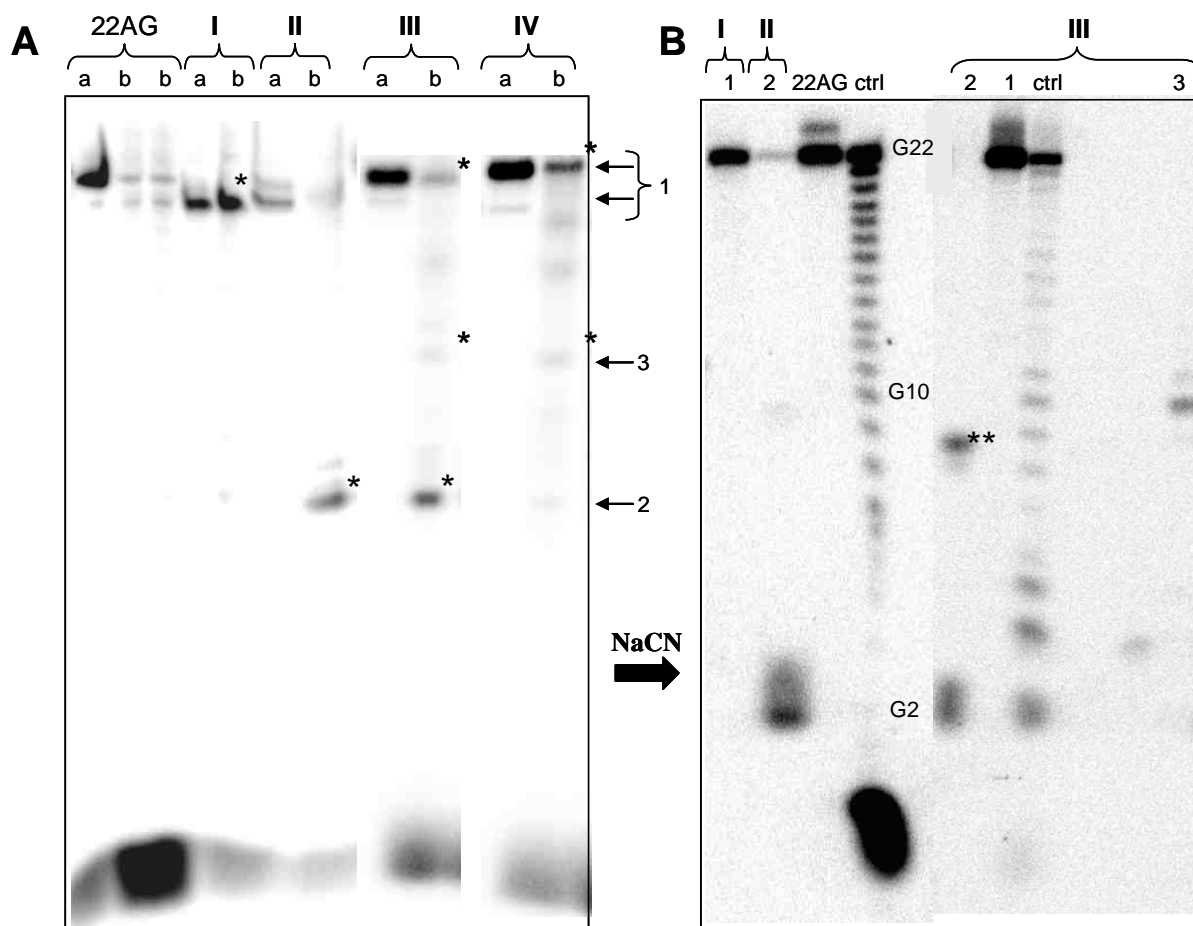


Figure 128. A. Gel d'électrophorèse en conditions dénaturantes de la digestion 3'-exoncléase de 22AG (contrôle) et des produits de platination I-IV obtenus par réaction du 22AG avec **Pt-MPQ 40** en conditions sodium. Voie a : pas d'enzyme, voie b : 0.04u/μL. * indique les bandes d'arrêt de digestion isolées, déplatinées et analysées en B. B. Gel d'électrophorèse en conditions dénaturantes des fragments de digestion 1, 2 et 3 déplatinés. Voie 22AG : oligonucléotide non digéré, voie Ctrl : fragments de digestion du 22AG non platiné à 0.001u/μL d'enzyme, servant de référence pour la migration des fragments déplatinés. ** indique un fragment non déplatiné par le NaCN.

III.2.4. Cinétique de platination G-quadruplexe vs duplexe d'ADN

Afin de caractériser la sélectivité de platination du **Pt-MPQ**, nous avons utilisé un oligonucléotide contenant une partie G-quadruplexe et une partie duplexe d'ADN, formant un système d'étude de cinétique de compétition intra-moléculaire. Ce système comprend un oligonucléotide de 35 bases (35G4, brin gris, Figure 129) au sein duquel la séquence de 22AG est flanquée sur son extrémité 3' d'un fragment simple brin de 13 bases ne contenant pas de guanines. Ce dernier s'apparie à un oligonucléotide de séquence complémentaire (13GG, brin noir Figure 129). Ce système présente ainsi les bases accessibles à la platination déterminées dans le cas de la structure G-quadruplexe antiparallèle de 22AG c'est-à-dire les adénines des boucles ainsi que les guanines G2, G10 et G14 (G22 n'est pas platinable ici en raison de sa

position à la jonction G-quadruplexe/ADN duplexe) [147]. La partie duplexe, quant à elle, contient deux sites majoritaires de platination G6 et G7 sur le brin complémentaire 13GG. Rappelons en effet ici que dans un duplexe d'ADN, les guanines sont platinées dix plus vite que les adénines. Ce système a initialement été conçu pour des études de cinétique du dérivé cisplatine $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ formant des pontages G6-G7 dans la partie duplexe et A1-G10 dans la partie G-quadruplexe [257].

Ce système est bien adapté pour l'étude du **Pt-MPQ**. Il présente en effet deux sites de platination majoritaires pour ce complexe sur la partie G-quadruplexe (G2 et G10) et deux sites sur la partie duplexe (G6 et G7 sur le brin complémentaire 13GG).

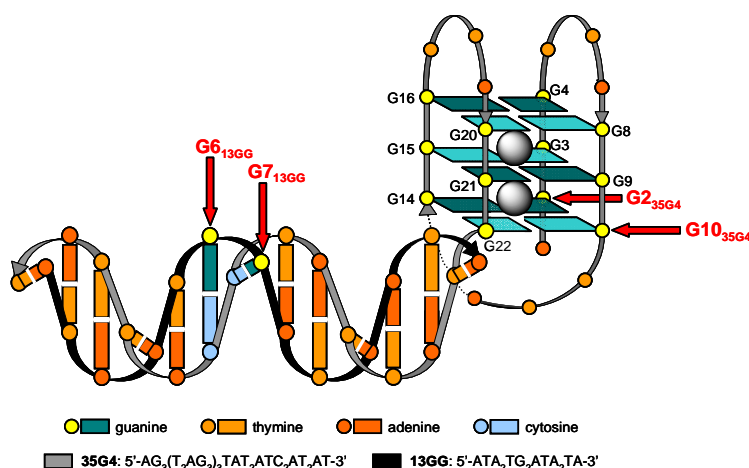


Figure 129. Représentation schématique du système [35G4/13GG]. Les flèches rouges indiquent les guanines platinables.

Les cinétiques de platination des deux parties du système [35G4/13GG] ont été étudiées comme décrit dans la littérature pour le complexe difonctionnel $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ [257] : les réactions de platination sont conduites avec **Pt-MPQ** et le système [35G4/13GG], radiomarqué sur la partie 35G4 ou sur la partie 13GG. Les produits de réaction sont séparés par migration sur gel d'électrophorèse en conditions dénaturantes (Figure 130A-B) et l'oligonucléotide non platiné restant est quantifié en fonction du temps de réaction (Figure 130C). Avec l'hybride **Pt-MPQ**, si la fixation est dirigée par le motif ligand de G-quadruplexe mono-*para*-quinacridine, la cinétique de platination du G-quadruplexe par rapport à celle du duplexe devrait être accélérée vis-à-vis du complexe de platine de référence cis- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$. La disparition de l'oligonucléotide non platiné est plus rapide pour le 35G4 que pour le brin 13GG (40.5 et 87.7% restant respectivement à 240min, Figure 130C).

Le rapport des constantes cinétiques de platination k_{35G4}/k_{13GG} est calculé d'après l'expression [257]:

$$(1) \quad \frac{k_{35G4}}{k_{13GG}} = \frac{\ln([35G4]/[35G4]_{t=0})}{\ln([13GG]/[13GG]_{t=0})}$$

Ce rapport est ici égal à 6.5 (Figure 130D). Cette valeur, trois fois plus élevée que dans le cas du cisplatine, suggère que la présence du motif ligand de G-quadruplexe améliore le taux de platination du G-quadruplexe par rapport au duplexe d'ADN. Ces résultats révèlent donc la préférence de l'hybride **Pt-MPQ 40** pour la structure G-quadruplexe.

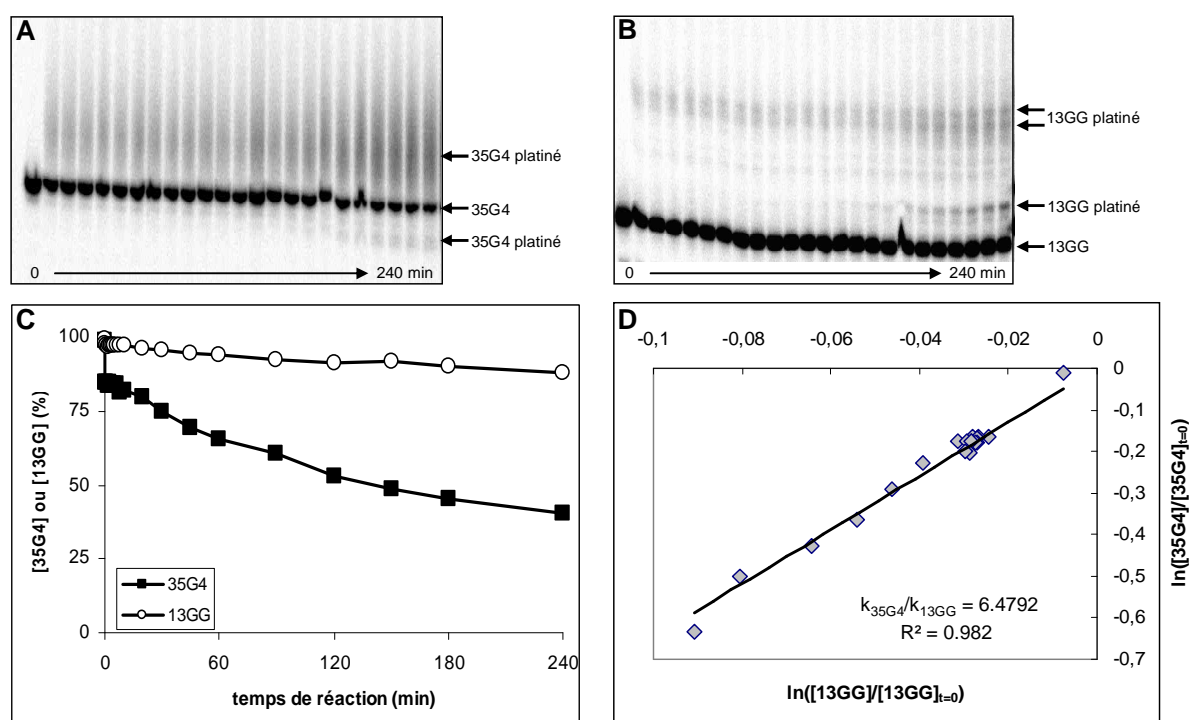


Figure 130. A-B. Gel d'électrophorèse en conditions dénaturantes des cinétiques de platination de [35G4/13GG] par **Pt-MPQ 40** avec 35G4 radiomarké (A) ou 13GG radiomarké (B). C. Proportion de 35G4 (carrés noirs) et de 13GG (cercles blancs) non platinés en fonction du temps. D. Détermination du rapport des constantes de platination G-quadruplexe vs duplexe.

III.2.5. Discussion et conclusion

Nous avons conçu une nouvelle famille d'hybrides quinacridine/platine dans le but d'interagir avec les G-quadruplexes de manière sélective et irréversible. Les analyses sur gel d'électrophorèse en conditions dénaturantes ont révélé la capacité du premier membre de cette série, **Pt-MPQ 40**, à platiniser ces structures. Les expériences de digestions chimique et

enzymatique ont permis l'identification de trois sites majoritaires de platination sur les guanines G2, G10 et G22. Ces observations indiquent tout d'abord que la platination s'effectue sur les structures G-quadruplexes du 22AG. En effet, dans le cas contraire, toutes les guanines auraient réagi. De plus, les guanines G2, G10 et G22 appartiennent toutes au même G-quartet externe (G2-G10-G14-G22) dans la structure anti-parallèle, ce qui suggère que cette forme est majoritairement piégée par **Pt-MPQ**. Cette hypothèse est appuyée par la formation prédominante de ces adduits en conditions sodium, favorisant le repliement du 22AG en G-quadruplexe antiparallèle [7].

Les travaux antérieurs relatifs à la platination des structures G-quadruplexes par le complexe $[\text{Pt}(\text{H}_2\text{O})(\text{NH}_3)_3]^{2+}$ ont identifié les bases G8, G10, A13, G14, G20 et G22 comme accessibles à la platination et ont conclu que les formes antiparallèle et parallèle des G-quadruplexes présentaient des profils de platination différents avec G10, G14 et G22 pour la structure antiparallèle et G8 et G20 pour la structure parallèle [147]. Notons à nouveau que les sites accessibles à la platination de la structure hybride ne sont pas encore identifiés [48].

Dans le cas du **Pt-MPQ 40**, les bases G8 et G20 ne sont pas platinées. Ceci pourrait indiquer à nouveau que ce complexe induit un piégeage sélectif de la structure anti-parallèle (ces deux bases n'étant pas accessibles dans cette conformation). On peut également envisager que le ligand interagit avec la structure parallèle (ou hybride) par stacking sur le quartet impliquant ces deux guanines, empêchant ainsi leur platination. Ce mode d'interaction non covalent ne peut cependant pas être mis en évidence par les expériences d'électrophorèse en conditions dénaturantes réalisées. La non-platination de A13 et G14 pourrait provenir d'une trop faible accessibilité de ces bases à la platination une fois le ligand en interaction avec la structure G-quadruplexe.

Il est intéressant de constater que les sites de platination de **Pt-MPQ** sont totalement différents de ceux obtenus pour les complexes de terpyridine, suggérant que c'est la fixation du ligand sur la structure G-quadruplexe qui gouverne le site de platination.

En conclusion, l'ensemble de ces observations et considérations nous a conduits à proposer un piégeage préférentiel de la structure anti-parallèle du 22AG par **Pt-MPQ**. Dans les adduits détectés, l'interaction de ce complexe serait dirigée par la reconnaissance préférentielle du quartet entouré de deux boucles latérales (G4-G8-G16-G20) par le motif quinacridine, permettant la platination des guanines du quartet externe opposé (Figure 131). Notons que l'interaction du motif quinacridine avec le quartet (G2-G10-G14-G22) est envisageable mais ne peut conduire à la formation d'adduits covalents (les guanines du G-quartet opposé n'étant

pas platinables dans cette conformation), le complexe non covalent correspondant ne pouvant être détecté.

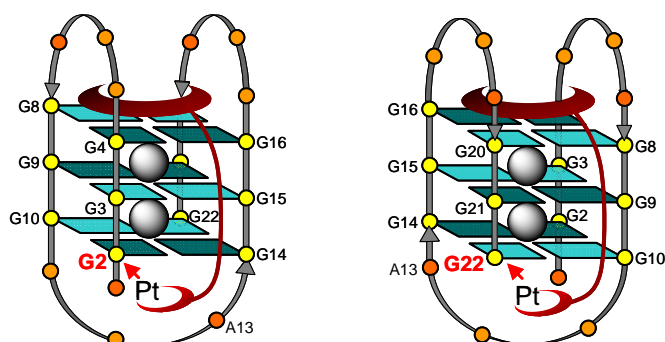


Figure 131. Représentation schématique de la structure proposée des adduits covalents détectés 22AG/Pt-MPQ (platination en G2 ou G22).

L'hybride **Pt-MPQ 40** présente un mode d'interaction mixte covalent/non covalent. Les deux unités fonctionnelles le constituant semblent nécessaires pour induire une stabilisation des structures G-quadruplexes. Les expériences menées sur ce complexe semblent ainsi valider notre approche visant à ponter le G-quadruplexe et font du **Pt-MPQ 40** une sonde de structure intéressante. Nous avons donc synthétisé de nouveaux hybrides différant de **Pt-MPQ** par la longueur de l'espaceur. L'étude de ces nouveaux complexes devrait nous permettre d'approfondir notre compréhension du mode d'interaction des ces hybrides avec les structures G-quadruplexes.

III.3. Extension de la famille des hybrides : variation de la longueur de l'espaceur.

III.3.1. Synthèse

Trois longueurs supplémentaires ont été envisagées pour la chaîne flexible séparant les motifs quinacridine et unité platine monofonctionnel : deux espaceurs courts à trois et quatre carbones (notés C3 et C4 respectivement) et une chaîne de type PEG plus longue d'environ 18 Å (notée C13). Ces différentes longueurs devraient permettre à l'unité platine d'atteindre soit les boucles entourant le quartet reconnu par la partie quinacridine (chaînes courtes) soit le quartet externe opposé et les boucles le voisinant (chaîne plus longue).

Dans le but d'optimiser la synthèse de ces hybrides, nous avons dans un premier temps modifié le groupement protecteur utilisé pour la mono-protection des espaceurs diamines. Ces

tentatives ont été menées avec la chaîne 2,2'-(éthylènedioxy)bis(éthylamine) du **Pt-MPQ 40**. L'introduction d'un groupement se déprotégeant en conditions basiques permettrait l'obtention directe d'une amine libre terminale pour l'introduction finale du platine. Nous avons ainsi substitué le ^tBoc par un trifluoroacétate (déprotection douce à l'ammoniaque aqueuse). La monoprotection de la chaîne fournit la N-trifluoroacétamide-2,2'-(éthylènedioxy)bis(éthylamine) **41** avec un rendement de 36%. La condensation de cette amine **41** sur la 2-carboxaldéhyde-*para*-quinacridine **35** par amination réductrice dans les conditions décrites précédemment (§III.2.1) ne fournit le produit attendu **42** qu'avec un rendement moyen de 21% malgré les nombreux essais d'optimisation (Schéma 16). Il semble que le groupement trifluoroacétamide soit partiellement déprotégé au cours de la réaction par le réducteur NaBH(OAc)₃ utilisé, pourtant doux. La formation de produits parasites et les difficultés supplémentaires de purification qui en résultent, expliquent cette chute de rendement. Cette stratégie a donc été abandonnée et les nouveaux hybrides synthétisés selon le même protocole que **Pt-MPQ 40**.

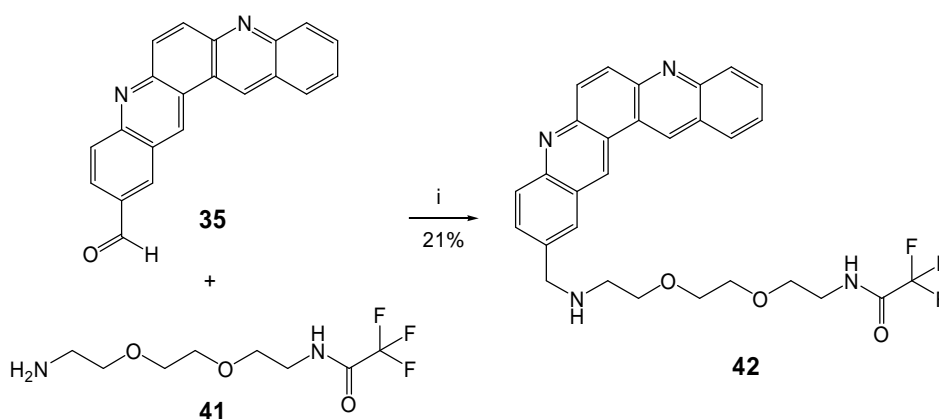


Schéma 16. Modification du groupement protecteur, synthèse du composé **42**. Conditions et réactifs : i. DCE, 40°C, 24hrs puis NaBH(OAc)₃, DCE, 40°C, 24hrs.

Les espaceurs choisis (C₃, C₄ et C₁₃) pour les trois nouveaux hybrides sont donc préalablement monoprotégés par des groupements ^tBoc, les amines **43**, **44** et **45** obtenues sont ensuite condensées sur la 2-carboxaldéhyde-*para*-quinacridine **35**. Les conditions d'amination réductrice ont été optimisées ; les meilleurs résultats sont obtenus quand la réaction est réalisée dans le méthanol avec le NaBH₄ (trois équivalents) comme réducteur. La suite de la synthèse est ensuite identique en tous points au **Pt-MPQ** : déprotection du ^tBoc et neutralisation du chlorhydrate obtenu fournissant les composés contrôles **MPQ-C3-NH2 46**, **MPQ-C4-NH2 47** et **MPQ-C13-NH2 48** puis greffage de l'unité platine **39**. Les trois

nouveaux hybrides, notés **Pt-MPQ-C3 49**, **Pt-MPQ-C4 50** et **Pt-MPQ-C13 51**, sont obtenus avec des rendements sur ces quatre étapes de 22, 27 et 12.3% respectivement. Ces rendements, relativement faibles, sont encore à optimiser. Cependant, ayant isolé les conjugués, nous nous sommes intéressés à caractériser leurs propriétés de platination des G-quadruplexes.

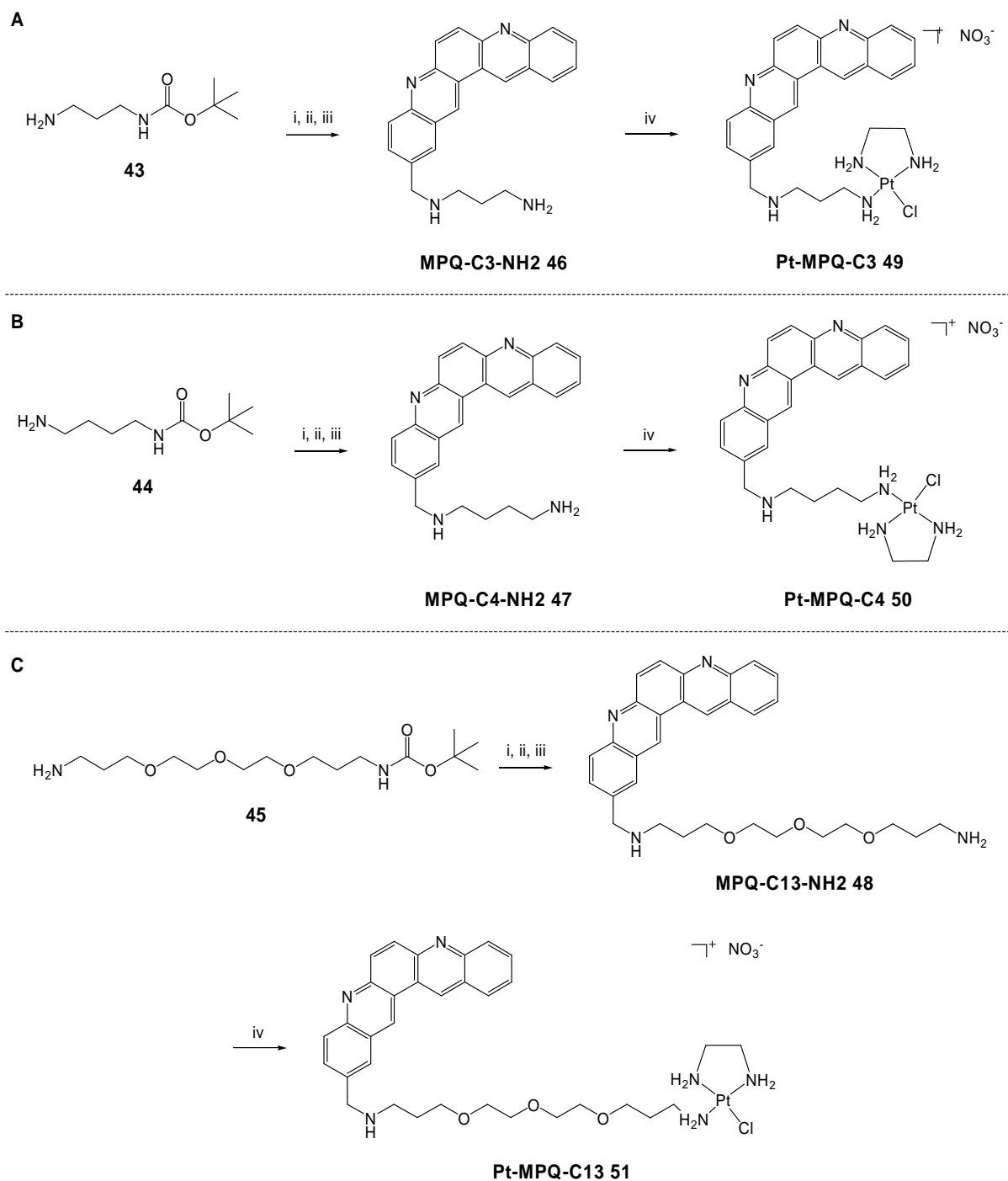


Schéma 17. Synthèse des hybrides **Pt-MPQ-C3 49**, **Pt-MPQ-C4 50** et **Pt-MPQ-C13 51**. Conditions et réactifs : i. MeOH, 16hrs puis NaBH₄ (3.0 équiv.), MeOH, 3hrs; ii. MeOH/HCl, RT, 4hrs; iii. Cs₂CO₃, CH₃CN/H₂O, RT, 10min; iv. [Pt(en)Cl(O-dmf)]⁺, DMF, 40°C, 16hrs.

III.3.2. Platination des G-quadruplexes par les hybrides 49-51.

Nous avons étudié la capacité de ces trois hybrides à platiniser les structures G-quadruplexes. Après incubation des complexes **49**, **50** et **51** avec le 22AG structuré en G-quadruplexe en présence d'ions sodium, les produits de réaction sont analysés par gel d'électrophorèse en conditions dénaturantes (Figure 132).

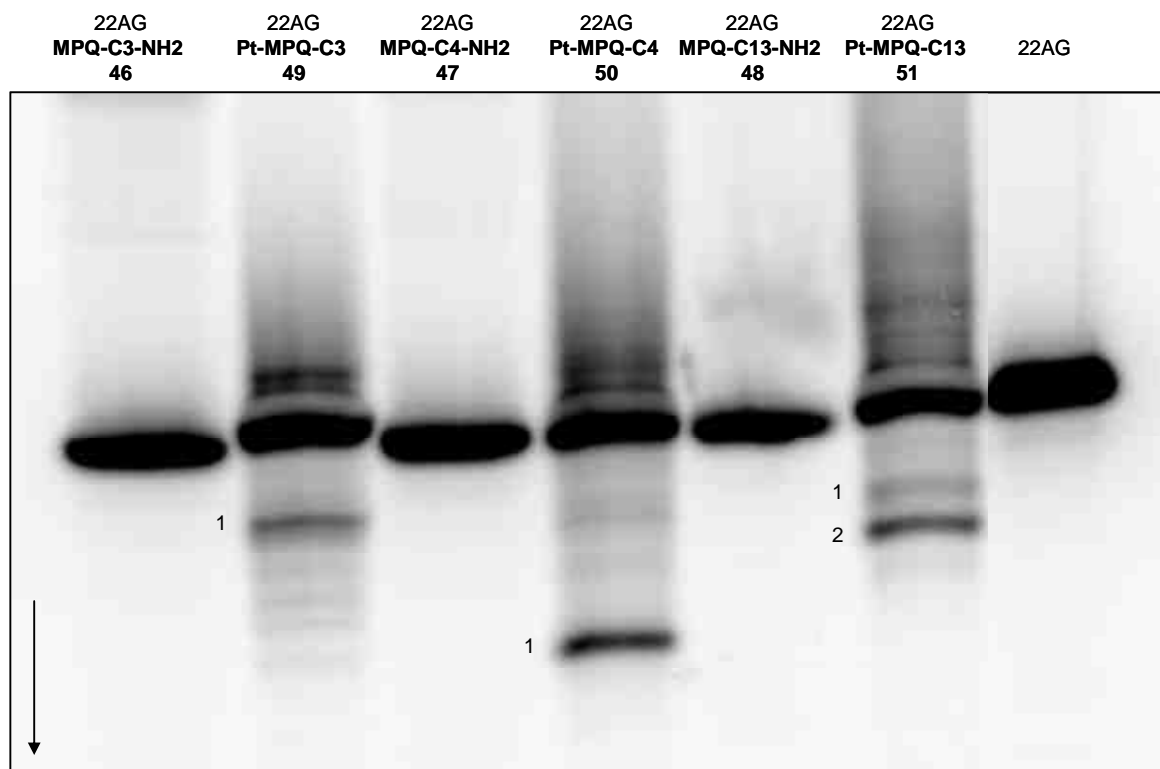


Figure 132. Gel d'électrophorèse en conditions dénaturantes (15% acrylamide) du 22AG, des produits de platination par les hybrides **49-51** et de l'incubation de 22AG avec les contrôles **46-48** en présence de sodium. La flèche indique le sens de migration.

Comme dans le cas du **Pt-MPQ 40**, on observe pour les trois nouveaux hybrides la formation de bandes de migration retardée et de migration accélérée indiquant que le 22AG a été platiné. Nous ne nous intéressons ici qu'aux bandes de migration accélérée, correspondant à des adduits platinés qui restent structurés en conditions dénaturantes. La présence de bandes de migration accélérée pour les hybrides **49-51** indique que ces complexes peuvent stabiliser le 22AG dans une forme structurée.

L'analyse des sites de platination de ces différents adduits a été réalisée par digestion enzymatique suivant le protocole utilisé pour **Pt-MPQ**. Bien qu'à confirmer, les résultats semblent indiquer que :

- La bande 1 formée par **Pt-MPQ-C3 49** correspond à 60% à un oligonucléotide mono-platiné en position G10.
- La bande 1 formée par **Pt-MPQ-C4 50** contient exclusivement un di-adduit en positions G10 et G22. On note la migration particulièrement accélérée de ce produit, malgré la diplatination (qui induit une augmentation du poids et de la charge). La structure de cet adduit doit donc être plus compacte.
- L'hybride **Pt-MPQ-C13 51** forme deux bandes accélérées 1 et 2. La bande 1 correspond à des mono-adduits platinés en G10 ou en G22, présents à environ 40% chacun. Le produit de la bande 2 a été identifié comme un di-adduit unique platiné au niveau des bases G10 et G22.

Notons que ces analyses préliminaires ne nous ont pas permis de conclure quant à la platination de ces hybrides en position G2.

Elles démontrent cependant la capacité des hybrides quinacridine/platine à platiniser les structures G-quadruplexes du 22AG, quelle soit la longueur de l'espaceur employé. Comme dans le cas du **Pt-MPQ 40**, les composés **49-51** peuvent stabiliser le 22AG sous sa forme structurée comme le montre la formation de produits platinés dont la migration est accélérée en conditions dénaturantes. Selon la longueur de chaîne, la formation de mono-adduits ou de di-adduits de platination a été mise en évidence. Les études préliminaires relatives à la localisation des sites de platination révèlent deux sites majoritaires de fixation en G10 et G22, déjà identifiés comme cibles préférentielles du **Pt-MPQ 40**. Ces guanines semblent donc être les seules bases accessibles à la platination avec les hybrides quinacridine/platine quelle que soit la longueur de chaîne employée. Ces résultats sont inattendus ; nous n'attendions pas en effet la platination des bases G10 et G22 avec des conjugués à chaînes courtes (**49** et **50**), la longueur de l'espaceur ne permettant pas une interaction de stacking sur un quartet et la platination sur le quartet externe opposé. Ce comportement, aujourd'hui inexpliqué, nous incite donc à revoir le mode d'interaction proposé pour **Pt-MPQ**. Les analyses relatives aux hybrides **Pt-MPQ-C3 49**, **Pt-MPQ-C4 50** et **Pt-MPQ-C13 51** doivent être confirmées afin d'interpréter ces résultats en termes de mode d'interaction des hybrides avec les structures G-quadruplexes.

III.4. Conclusions et perspectives

Nous avons conçu et développé une famille d'hybrides quinacridine/platine mono-fonctionnels dans le but de stabiliser sélectivement et de manière irréversible les structures G-

quadruplexes formées par le 22AG. L'étude du premier membre de cette famille, le **Pt-MPQ 40**, a permis de valider notre approche. Elle a en effet démontré la capacité de ce complexe à platiner ces structures et à les stabiliser sous forme repliée. L'identification de trois sites majoritaires de platination en G2, G10 et G22 nous a conduit à proposer un mode d'interaction mixte covalent/non-covalent avec la structure antiparallèle du 22AG. Des analyses préliminaires sur des analogues **49-51** du **Pt-MPQ** différant par la longueur de l'espaceur confirment leur aptitude à platiner les structures G-quadruplexes. Le comportement de ces hybrides semble tout à fait comparable à celui du **Pt-MPQ**. Il s'agit maintenant de poursuivre ces études, afin d'obtenir de nouveaux éléments sur le mode d'interaction de ces complexes avec les structures G-quadruplexes. Ils semblent d'ores et déjà constituer des sondes structurales intéressantes.

Nous avons enfin envisagé de faire varier le motif ligand de G-quadruplexe pour améliorer la sélectivité de fixation des hybrides avec les G-quadruplexes. L'introduction du motif PDC (pyridodicarboxamide) est particulièrement attrayante en raison de ses excellentes propriétés en tant que ligand de G-quadruplexe (voir Introduction §III.1.3 p121). La synthèse d'un dérivé **Pt-PDC** (Figure 133) est actuellement en cours.

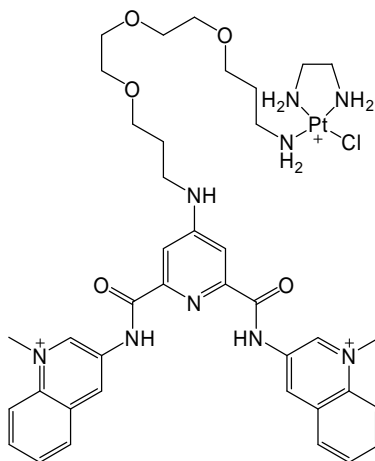


Figure 133. Formule chimique du **Pt-PDC** en cours de synthèse.

IV. Conclusions sur la platination des structures G-quadruplexes.

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés à la platination des structures G-quadruplexes à travers deux familles de composés : les complexes de terpyridine et les conjugués quinacridine/platine. De par leur structure chimique, ces composés constituent deux approches différentes : dans le premier cas, le platine est intégré dans le motif ligand de G-quadruplexe tandis que chez les hybrides, l'unité platine est séparée du ligand de G-quadruplexe par une chaîne flexible. Ces deux familles de complexes ont révélé un comportement de platination très différent. Les complexes de terpyridine **24-26** conduisent à une platination sélective de certaines adénines des boucles, comportement dirigé par la surface aromatique des ligands et l'accessibilité des G-quartets externes. Les hybrides quinacridine/platine en revanche permettent une platination de certaines guanines constituant un des quartets externes de la structure antiparallèle. Nous proposons un modèle d'interaction pour le complexe **Pt-MPQ 40** dans lequel la quinacridine s'empile sur un quartet, permettant à l'unité platine de réagir avec les guanines du quartet opposé, induisant ainsi un pontage de la structure. Si le mode d'interaction de ces composés avec les G-quadruplexes reste encore à déterminer avec certitude, ces deux familles constituent de bons outils pour étudier ces structures et une approche intéressante pour le développement de ligands capables de stabiliser les G-quadruplexes sélectivement et de manière irréversible. Cette stratégie suscite d'ailleurs un intérêt croissant, comme le montrent les exemples de plus en plus nombreux de complexes de platine en tant que ligands de G-quadruplexes développés depuis le début de nos travaux (voir Introduction §III.1.4).

Des études complémentaires sont en cours sur ces deux familles de complexes. Nous envisageons ainsi de réaliser des études de microscopie ionique pour étudier la distribution cellulaire des complexes de terpyridines **Pt-ttpty 25** et **Pt-ctpty 26**. Les analyses biochimiques *in vitro* se poursuivent pour les hybrides **49-51** de manière à éclaircir leur mode d'interaction avec les G-quadruplexes et de nouveaux complexes basés sur des ligands plus sélectifs sont en cours de synthèse. Enfin, les complexes **Pt-ttpty 25**, **Pt-ctpty 26** et **Pt-MPQ 40** sont actuellement étudiés pour leurs effets cellulaires.

Conclusions générales et perspectives.

L'objectif essentiel de ce travail de thèse consistait à développer la famille des triazatrinaphthylènes (TrisKs), molécules hétéroaromatiques étendues de symétrie C_{3h} et d'étudier ces molécules dans les contextes généraux des matériaux et de la reconnaissance d'ADN. Le but était en effet de montrer qu'un même motif aromatique peut présenter des propriétés intéressantes dans des domaines *a priori* distincts mais exploitant les mêmes phénomènes d'interactions intermoléculaires non covalentes. Nous nous sommes ici intéressés à ces molécules pour leurs propriétés d'auto-assemblage bi-dimensionnel sur des surfaces d'une part et de reconnaissance d'ADN G-quadruplexe d'autre part. Le contrôle de l'interface substrat/couche organique active est en effet d'une importance cruciale pour les propriétés des dispositifs moléculaires. Par ailleurs les structures G-quadruplexes suscitent actuellement un vif intérêt dans la communauté scientifique comme cibles potentielles en stratégie anti-cancéreuse.

Dans la première partie de cette thèse, nous avons développé la synthèse des TrisKs substitués par des chaînes lipophiles et caractérisé leurs propriétés d'auto-assemblage 2D sur du graphite HOPG par microscopie à effet tunnel à l'interface liquide/solide (et plus précisément n-tétradécane/graphite HOPG). Nous avons montré que les TrisKs fonctionnalisés par des chaînes alkoxy formaient des monocouches auto-organisées stables sur HOPG. Nous avons montré que la longueur et le nombre de chaînes alkoxy latérales introduites influencent notablement la structure et la symétrie des auto-assemblages formés. L'introduction d'atomes lourds comme des chlores sur le squelette aromatique des TrisKs modifie fortement le comportement d'auto-organisation de ces molécules. Nous avons cherché à rationaliser ces observations en termes d'interactions molécule-molécule et molécule-substrat. Des études complémentaires sont nécessaires pour comprendre les contributions respectives des phénomènes responsables de l'auto-assemblage bi-dimensionnel de ces composés. Les travaux réalisés au cours de cette thèse offrent également des perspectives en termes de caractérisation de certains TrisKs pour leurs propriétés éventuelles de cristal liquide.

La seconde partie de cette thèse était consacrée au développement de nouveaux ligands d'ADN G-quadruplexe. L'introduction de chaînes aminées protonées à pH physiologique sur les TrisKs nous a permis d'utiliser avec succès ce motif aromatique de symétrie ternaire pour

la stabilisation des structures G-quadruplexes, remplissant ainsi notre objectif initial. Les Trisamino-TrisK portant des amines libres aux extrémités des chaînes latérales montrent ainsi une bonne affinité et une sélectivité correcte pour les structures G-quadruplexes. Les résultats obtenus sont encourageants et valident l'utilisation de la symétrie ternaire pour le développement de nouveaux ligands de G-quadruplexes. La substitution des TrisKs par des chaînes aminées permettant d'introduire des interactions supplémentaires avec les boucles de ces structures est envisagée dans le but d'atteindre une meilleure sélectivité.

Nous avons ensuite développé un analogue structural des Trisamino-TrisKs portant cette fois-ci des charges positives intrinsèques dans le squelette aromatique. Le TrisQ ainsi synthétisé a démontré de très intéressantes propriétés en tant que ligand d'ADN G-quadruplexe, confirmant à nouveau le potentiel de cette symétrie ternaire. Ce composé s'est par ailleurs révélé capable de photo-oxyder un plasmide ; il serait intéressant d'étudier plus avant cette propriété de coupure photoinduite.

Dans ce contexte de stabilisation de l'ADN G-quadruplexe, nous avons enfin voulu développer l'utilisation de complexes métalliques. L'étude de complexes de terpyridine nous a permis de mettre en évidence l'importance de la géométrie du centre métallique et de la surface aromatique du ligand dans les propriétés de reconnaissance des structures G-quadruplexes. Nous avons ainsi identifié un complexe de cuivre représentant un compromis particulièrement intéressant en termes d'accès synthétique, d'affinité et de sélectivité.

Nous avons enfin étudié la platination des structures G-quadruplexes par deux familles de complexes : les complexes de terpyridines et des complexes hybrides quinacridine/platine. Les premiers platinent sélectivement les adénines des boucles des structures G-quadruplexes tandis que les seconds platinent sélectivement le quartet externe en 5' de la structure anti-parallèle. Des études sont en cours pour mieux caractériser leur mode d'interaction avec les G-quadruplexes.

Cette deuxième partie a donc été l'occasion d'explorer différentes stratégies pour le développement de nouveaux ligands d'ADN G-quadruplexe et de concourir à comprendre la contribution relative des différentes interactions intermoléculaires mises en jeu dans la reconnaissance de ces structures particulières d'ADN.

Bibliographie

1. Gellert, M.; Lipsett, M.N.; Davies, D.R., Helix Formation by Guanylic Acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1962**, 48, 2013-2018.
2. Sasisekharan, V.; Zimmerman, S.; Davies, D.R., Structure of Helical 5'-Guanosine Monophosphate. *J. Mol. Biol.*, **1975**, 92, 171-179.
3. Zimmerman, S.B.; Cohen, G.H.; Davies, D.R., X-Ray Fiber Diffraction and Model-Building Study of Polyguanylic Acid and Polyinosinic Acid. *J. Mol. Biol.*, **1975**, 92, 181-192.
4. Neidle, S.; Balasubramanian, S., *Quadruplex nucleic acids*. 2006, Cambridge: RSC Pub. xiv, 301 p.
5. Laughlan, G.; Murchie, A.I.H.; Norman, D.G.; Moore, M.H.; Moody, P.C.E.; Lilley, D.M.J.; Luisi, B., The High-Resolution Crystal-Structure of a Parallel-Stranded Guanine Tetraplex. *Science*, **1994**, 265, 520-524.
6. Venczel, E.A.; Sen, D., Parallel and Antiparallel G-DNA Structures from a Complex Telomeric Sequence. *Biochemistry*, **1993**, 32, 6220-6228.
7. Burge, S.; Parkinson, G.N.; Hazel, P.; Todd, A.K.; Neidle, S., Quadruplex DNA: sequence, topology and structure. *Nucleic Acids Res.*, **2006**, 34, 5402-5415.
8. Riou, J.F.; Gomez, D.; Lemarteleur, T.; Trentesaux, C., G-quadruplex DNA: myth or reality? *Bull. Cancer*, **2003**, 90, 305-313.
9. Phan, A.T.; Kuryavyi, V.; Patel, D.J., DNA architecture: from G to Z. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **2006**, 16, 288-298.
10. Paramasivan, S.; Rujan, I.; Bolton, P.H., Circular dichroism of quadruplex DNAs: Applications to structure, cation effects and ligand binding. *Methods*, **2007**, 43, 324-331.
11. Mergny, J.L.; Phan, A.T.; Lacroix, L., Following G-quartet formation by UV-spectroscopy. *FEBS Lett.*, **1998**, 435, 74-78.
12. Johnson, J.E.; Smith, J.S.; Kozak, M.L.; Johnson, F.B., In vivo veritas: Using yeast to probe the biological functions of G-quadruplexes. *Biochimie*, **2008**, 90, 1250-1263.
13. Todd, A.K.; Johnston, M.; Neidle, S., Highly prevalent putative quadruplex sequence motifs in human DNA. *Nucleic Acids Res.*, **2005**, 33, 2901-2907.
14. Huppert, J.L.; Balasubramanian, S., Prevalence of quadruplexes in the human genome. *Nucleic Acids Res.*, **2005**, 33, 2908-2916.
15. Huppert, J.L., Hunting G-quadruplexes. *Biochimie*, **2008**, 90, 1140-1148.
16. Sen, D.; Gilbert, W., Formation of Parallel 4-Stranded Complexes by Guanine-Rich Motifs in DNA and Its Implications for Meiosis. *Nature*, **1988**, 334, 364-366.
17. Duquette, M.L.; Handa, P.; Vincent, J.A.; Taylor, A.F.; Maizels, N., Intracellular transcription of G-rich DNAs induces formation of G-loops, novel structures containing G4 DNA. *Genes Dev.*, **2004**, 18, 1618-1629.
18. Hanakahi, L.A.; Sun, H.; Maizels, N., High affinity interactions of nucleolin with G-G-paired rDNA. *J. Biol. Chem.*, **1999**, 274, 15908-15912.
19. Qin, Y.; Hurley, L.H., Structures, folding patterns, and functions of intramolecular DNA G-quadruplexes found in eukaryotic promoter regions. *Biochimie*, **2008**, 90, 1149-1171.
20. Eddy, J.; Maizels, N., Gene function correlates with potential for G4 DNA formation in the human genome. *Nucleic Acids Res.*, **2006**, 34, 3887-3896.

21. Siddiqui-Jain, A.; Grand, C.L.; Bearss, D.J.; Hurley, L.H., Direct evidence for a G-quadruplex in a promoter region and its targeting with a small molecule to repress c-MYC transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2002**, *99*, 11593-11598.
22. Whitten, J.P.; Pierre, F.; Schwaebe, M., Quinobenzoxazine analogs and methods of using thereof, WO 2006/113509 A2, 26.10.2006
23. Phan, A.T.; Modi, Y.S.; Patel, D.J., Propeller-type parallel-stranded g-quadruplexes in the human c-myc promoter. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 8710-8716.
24. Ambrus, A.; Chen, D.; Dai, J.X.; Jones, R.A.; Yang, D.Z., Solution structure of the biologically relevant g-quadruplex element in the human c-MYC promoter. implications for g-quadruplex stabilization. *Biochemistry*, **2005**, *44*, 2048-2058.
25. Phan, A.T.; Kuryavyi, V.; Burge, S.; Neidle, S.; Patel, D.J., Structure of an unprecedented G-quadruplex scaffold in the human c-kit promoter. *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 4386-4392.
26. Dai, J.X.; Chen, D.; Jones, R.A.; Hurley, L.H.; Yang, D.Z., NMR solution structure of the major G-quadruplex structure formed in the human BCL2 promoter region. *Nucleic Acids Res.*, **2006**, *34*, 5133-5144.
27. Fry, M., Tetraplex DNA and its interacting proteins. *Front. Biosci.*, **2007**, *12*, 4336-4351.
28. Fang, G.W.; Cech, T.R., The Beta-Subunit of Oxytricha Telomere-Binding Protein Promotes G-Quartet Formation by Telomeric DNA. *Cell*, **1993**, *74*, 875-885.
29. Paeschke, K.; Simonsson, T.; Postberg, J.; Rhodes, D.; Lipps, H.J., Telomere end-binding proteins control the formation of G-quadruplex DNA structures in vivo. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **2005**, *12*, 847-854.
30. Zaug, A.J.; Podell, E.R.; Cech, T.R., Human POT1 disrupts telomeric G-quadruplexes allowing telomerase extension in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2005**, *102*, 10864-10869.
31. Sun, H.; Karow, J.K.; Hickson, I.D.; Maizels, N., The Bloom's syndrome helicase unwinds G4 DNA. *J. Biol. Chem.*, **1998**, *273*, 27587-27592.
32. Huber, M.D.; Lee, D.C.; Maizels, N., G4 DNA unwinding by BLM and Sgs1p: substrate specificity and substrate-specific inhibition. *Nucleic Acids Res.*, **2002**, *30*, 3954-3961.
33. Huber, M.D.; Duquette, M.L.; Shiels, J.C.; Maizels, N., A conserved G4 DNA binding domain in RecQ family helicases. *J. Mol. Biol.*, **2006**, *358*, 1071-1080.
34. Li, J.L.; Harrison, R.J.; Reszka, A.P.; Brosh, R.M.; Bohr, V.A.; Neidle, S.; Hickson, I.D., Inhibition of the Bloom's and Werner's syndrome helicases by G-quadruplex interacting ligands. *Biochemistry*, **2001**, *40*, 15194-15202.
35. Sun, H.; Yabuki, A.; Maizels, N., A human nuclease specific for G4 DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2001**, *98*, 12444-12449.
36. Schaffitzel, C.; Berger, I.; Postberg, J.; Hanes, J.; Lipps, H.J.; Pluckthun, A., In vitro generated antibodies specific for telomeric guanine-quadruplex DNA react with *Stylylonchia lemnae* macronuclei. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2001**, *98*, 8572-8577.
37. Granotier, C.; Pennarun, G.; Riou, L.; Hoffschir, F.; Gauthier, L.R.; De Cian, A.; Gomez, D.; Mandine, E.; Riou, J.F.; Mergny, J.L.; Mailliet, P.; Dutrillaux, B.; Boussin, F.D., Preferential binding of a G-quadruplex ligand to human chromosome ends. *Nucleic Acids Res.*, **2005**, *33*, 4182-4190.
38. Macaya, R.F.; Schultze, P.; Smith, F.W.; Roe, J.A.; Feigon, J., Thrombin-Binding DNA Aptamer Forms a Unimolecular Quadruplex Structure in Solution. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1993**, *90*, 3745-3749.
39. Macaya, R.F.; Waldron, J.A.; Beutel, B.A.; Gao, H.T.; Joesten, M.E.; Yang, M.H.; Patel, R.; Bertelsen, A.H.; Cook, A.F., Structural and Functional-Characterization of

- Potent Antithrombotic Oligonucleotides Possessing Both Quadruplex and Duplex Motifs. *Biochemistry*, **1995**, *34*, 4478-4492.
40. Bailey, S.M.; Murnane, J.P., Telomeres, chromosome instability and cancer. *Nucleic Acids Res.*, **2006**, *34*, 2408-2417.
41. Hayflick, L.; Moorhead, P.S., Serial Cultivation of Human Diploid Cell Strains. *Exp. Cell Res.*, **1961**, *25*, 585-621.
42. Shay, J.W.; Wright, W.E., Hayflick, his limit, and cellular ageing. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2000**, *1*, 72-76.
43. Teixeira, M.T.; Gilson, E., Telomere maintenance, function and evolution: the yeast paradigm. *Chromosome Res.*, **2005**, *13*, 535-548.
44. Gilson, E.; Londono-Vallejo, A., Telomere length profiles in humans - All ends are not equal. *Cell Cycle*, **2007**, *6*, 2486-2494.
45. Wang, Y.; Patel, D.J., Solution Structure of a Parallel-Stranded G-Quadruplex DNA. *J. Mol. Biol.*, **1993**, *234*, 1171-1183.
46. Wang, Y.; Patel, D.J., Solution Structure of the Human Telomeric Repeat D Ag(3)(T(2)Ag(3))₃ G-Tetraplex. *Structure*, **1993**, *1*, 263-282.
47. Parkinson, G.N.; Lee, M.P.H.; Neidle, S., Crystal structure of parallel quadruplexes from human telomeric DNA. *Nature*, **2002**, *417*, 876-880.
48. Ambrus, A.; Chen, D.; Dai, J.X.; Bialis, T.; Jones, R.A.; Yang, D.Z., Human telomeric sequence forms a hybrid-type intramolecular G-quadruplex structure with mixed parallel/antiparallel strands in potassium solution. *Nucleic Acids Res.*, **2006**, *34*, 2723-2735.
49. Luu, K.N.; Phan, A.T.; Kuryavyi, V.; Lacroix, L.; Patel, D.J., Structure of the human telomere in K⁺ solution: An intramolecular (3+1) G-quadruplex scaffold. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 9963-9970.
50. Dai, J.X.; Carver, M.; Punchihewa, C.; Jones, R.A.; Yang, D.Z., Structure of the Hybrid-2 type intramolecular human telomeric G-quadruplex in K⁺ solution: insights into structure polymorphism of the human telomeric sequence. *Nucleic Acids Res.*, **2007**, *35*, 4927-4940.
51. Phan, A.T.; Luu, K.N.; Patel, D.J., Different loop arrangements of intramolecular human telomeric (3+1) G-quadruplexes in K⁺ solution. *Nucleic Acids Res.*, **2006**, *34*, 5715-5719.
52. Dai, J.X.; Punchihewa, C.; Ambrus, A.; Chen, D.; Jones, R.A.; Yang, D.Z., Structure of the intramolecular human telomeric G-quadruplex in potassium solution: a novel adenine triple formation. *Nucleic Acids Res.*, **2007**, *35*, 2440-2450.
53. Dai, J.; Carver, M.; Yang, D., Polymorphism of human telomeric quadruplex structures. *Biochimie*, **2008**, *90*, 1172-1183.
54. Griffith, J.D.; Comeau, L.; Rosenfield, S.; Stansel, R.M.; Bianchi, A.; Moss, H.; de Lange, T., Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell*, **1999**, *97*, 503-514.
55. Oganessian, L.; Bryan, T.M., Physiological relevance of telomeric G-quadruplex formation: a potential drug target. *BioEssays*, **2007**, *29*, 155-165.
56. de Lange, T., Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev.*, **2005**, *19*, 2100-2110.
57. Amiard, S.; Doudeau, M.; Pinte, S.; Poulet, A.; Lenain, C.; Faivre-Moskalenko, C.; Angelov, D.; Hug, N.; Vindigni, A.; Bouvet, P.; Paoletti, J.; Gilson, E.; Giraud-Panis, M.J., A topological mechanism for TRF2-enhanced strand invasion. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **2007**, *14*, 147-154.
58. Lei, M.; Zaug, A.J.; Podell, E.R.; Cech, T.R., Switching human telomerase on and off with hPOT1 protein in vitro. *J. Biol. Chem.*, **2005**, *280*, 20449-20456.

59. Longhese, M.P., DNA damage response at functional and dysfunctional telomeres. *Genes Dev.*, **2008**, 22, 125-140.
60. Hockemeyer, D.; Sfeir, A.J.; Shay, J.W.; Wright, W.E.; de Lange, T., POT1 protects telomeres from a transient DNA damage response and determines how human chromosomes end. *EMBO J.*, **2005**, 24, 2667-2678.
61. Greider, C.W.; Blackburn, E.H., Identification of a Specific Telomere Terminal Transferase-Activity in Tetrahymena Extracts. *Cell*, **1985**, 43, 405-413.
62. Autexier, C.; Lue, N.F., The structure and function of telomerase reverse transcriptase. *Annu. Rev. Biochem.*, **2006**, 75, 493-517.
63. Cech, T.R., Beginning to understand the end of the chromosome. *Cell*, **2004**, 116, 273-279.
64. Kim, N.W.; Piatyszek, M.A.; Prowse, K.R.; Harley, C.B.; West, M.D.; Ho, P.L.C.; Coviello, G.M.; Wright, W.E.; Weinrich, S.L.; Shay, J.W., Specific Association of Human Telomerase Activity with Immortal Cells and Cancer. *Science*, **1994**, 266, 2011-2015.
65. Bryan, T.M.; Englezou, A.; Gupta, J.; Bacchetti, S.; Reddel, R.R., Telomere Elongation in Immortal Human-Cells without Detectable Telomerase Activity. *EMBO J.*, **1995**, 14, 4240-4248.
66. de Lange, T., T-loops and the origin of telomeres. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2004**, 5, 323-329.
67. Brunori, M.; Luciano, P.; Gilson, E.; Geli, V., The telomerase cycle: normal and pathological aspects. *J. Mol. Med.*, **2005**, 83, 244-257.
68. Rezler, E.M.; Bearss, D.J.; Hurley, L.H., Telomere inhibition and telomere disruption as processes for drug targeting. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **2003**, 43, 359-379.
69. Shay, J.W.; Wright, W.E., Telomerase therapeutics for cancer: challenges and new directions. *Nat. Rev. Drug Discovery*, **2006**, 5, 577-584.
70. Shay, J.W.; Keith, W.N., Targeting telomerase for cancer therapeutics. *Br. J. Cancer*, **2008**, 98, 677-683.
71. De Cian, A.; Lacroix, L.; Douarre, C.; Temime-Smaali, N.; Trentesaux, C.; Riou, J.F.; Mergny, J.L., Targeting telomeres and telomerase. *Biochimie*, **2008**, 90, 131-155.
72. Cuesta, J.; Read, M.; Neidle, S., The design of G-quadruplex ligands as telomerase inhibitors. *Mini Rev. Med. Chem.*, **2003**, 3, 11-21.
73. Ou, T.M.; Lu, Y.J.; Tan, J.H.; Huang, Z.S.; Wong, K.Y.; Gu, L.Q., G-quadruplexes: Targets in anticancer drug design. *ChemMedChem*, **2008**, 3, 690-713.
74. Monchaud, D.; Teulade-Fichou, M.P., A hitchhiker's guide to G-quadruplex ligands. *Org. Biomol. Chem.*, **2008**, 6, 627-636.
75. Shin-ya, K.; Wierzba, K.; Matsuo, K.; Ohtani, T.; Yamada, Y.; Furihata, K.; Hayakawa, Y.; Seto, H., Telomestatin, a novel telomerase inhibitor from *Streptomyces anulatus*. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 1262-1263.
76. Gomez, D.; Wenner, T.; Brassart, B.; Douarre, C.; O'Donohue, M.F.; El Khoury, V.; Shin-Ya, K.; Morjani, H.; Trentesaux, C.; Riou, J.F., Telomestatin-induced telomere uncapping is modulated by POT1 through G-overhang extension in HT1080 human tumor cells. *J. Biol. Chem.*, **2006**, 281, 38721-38729.
77. Doi, T.; Yoshida, M.; Shin-ya, K.; Takahashi, T., Total synthesis of (R)-telomestatin. *Org. Lett.*, **2006**, 8, 4165-4167.
78. Tera, M.; Sohtome, Y.; Ishizuka, H.; Doi, T.; Takagi, M.; Shin-Ya, K.; Nagasawa, K., Design and synthesis of telomestatin derivatives and their inhibitory activity of telomerase. *Heterocycles*, **2006**, 69, 505-514.

79. Minhas, G.S.; Pilch, D.S.; Kerrigan, J.E.; LaVoie, E.J.; Rice, J.E., Synthesis and G-quadruplex stabilizing properties of a series of oxazole-containing macrocycles. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 3891-3895.
80. Rzuczek, S.G.; Pilch, D.S.; LaVoie, E.J.; Rice, J.E., Lysinyl macrocyclic hexaoxazoles: Synthesis and selective G-quadruplex stabilizing properties. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, *18*, 913-917.
81. Ren, J.S.; Chaires, J.B., Sequence and structural selectivity of nucleic acid binding ligands. *Biochemistry*, **1999**, *38*, 16067-16075.
82. Rosu, F.; Gabelica, V.; Houssier, C.; Colson, P.; De Pauw, E., Triplex and quadruplex DNA structures studied by electrospray mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2002**, *16*, 1729-1736.
83. Sun, D.Y.; Thompson, B.; Cathers, B.E.; Salazar, M.; Kerwin, S.M.; Trent, J.O.; Jenkins, T.C.; Neidle, S.; Hurley, L.H., Inhibition of human telomerase by a G-quadruplex-interactive compound. *J. Med. Chem.*, **1997**, *40*, 2113-2116.
84. Read, M.A.; Wood, A.A.; Harrison, J.R.; Gowan, S.M.; Kelland, L.R.; Dosanjh, H.S.; Neidle, S., Molecular modeling studies on G-quadruplex complexes of telomerase inhibitors: Structure-activity relationships. *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*, 4538-4546.
85. Haider, S.M.; Parkinson, G.N.; Neidle, S., Structure of a G-quadruplex-ligand complex. *J. Mol. Biol.*, **2003**, *326*, 117-125.
86. Schultes, C.M.; Guyen, W.; Cuesta, J.; Neidle, S., Synthesis, biophysical and biological evaluation of 3,6-bis-amidoacridines with extended 9-anilino substituents as potent G-quadruplex-binding telomerase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, *14*, 4347-4351.
87. Moore, M.J.B.; Schultes, C.M.; Cuesta, J.; Cuenca, F.; Gunaratnam, M.; Tanious, F.A.; Wilson, W.D.; Neidle, S., Trisubstituted acridines as G-quadruplex telomere targeting agents. Effects of extensions of the 3,6-and 9-side chains on quadruplex binding, telomerase activity, and cell proliferation. *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 582-599.
88. Fedoroff, O.Y.; Salazar, M.; Han, H.Y.; Chemeris, V.V.; Kerwin, S.M.; Hurley, L.H., NMR-based model of a telomerase-inhibiting compound bound to G-quadruplex DNA. *Biochemistry*, **1998**, *37*, 12367-12374.
89. Kern, J.T.; Thomas, P.W.; Kerwin, S.M., The relationship between ligand aggregation and G-quadruplex DNA selectivity in a series of 3,4,9,10-perylenetetra-carboxylic acid diimides. *Biochemistry*, **2002**, *41*, 11379-11389.
90. Kern, J.T.; Kerwin, S.M., The aggregation and G-quadruplex DNA selectivity of charged 3,4,9,10-perylenetetra-carboxylic acid diimides. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2002**, *12*, 3395-3398.
91. Mergny, J.L.; Lacroix, L.; Teulade-Fichou, M.P.; Hounsou, C.; Guittat, L.; Hoarau, M.; Arimondo, P.B.; Vigneron, J.P.; Lehn, J.M.; Riou, J.F.; Garestier, T.; Helene, C., Telomerase inhibitors based on quadruplex ligands selected by a fluorescence assay. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2001**, *98*, 3062-3067.
92. Hounsou, C.; Guittat, L.; Monchaud, D.; Jourdan, M.; Saettel, N.; Mergny, J.L.; Teulade-Fichou, M.P., G-quadruplex recognition by quinacridines: a SAR, NMR, and biological study. *ChemMedChem*, **2007**, *2*, 655-666.
93. Teulade-Fichou, M.P.; Carrasco, C.; Guittat, L.; Bailly, C.; Alberti, P.; Mergny, J.L.; David, A.; Lehn, J.M.; Wilson, W.D., Selective recognition of G-quadruplex telomeric DNA by a bis(quinacridine) macrocycle. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 4732-4740.
94. Wheelhouse, R.T.; Jennings, S.A.; Phillips, V.A.; Pletsas, D.; Murphy, P.M.; Garbett, N.C.; Chaires, J.B.; Jenkins, T.C., Design, synthesis, and evaluation of novel biarylpyrimidines: A new class of ligand for unusual nucleic acid structures. *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 5187-5198.

95. Moorhouse, A.D.; Santos, A.M.; Gunaratnam, M.; Moore, M.; Neidle, S.; Moses, J.E., Stabilization of G-quadruplex DNA by highly selective ligands via click chemistry. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 15972-15973.
96. Moorhouse, A.D.; Haider, S.; Gunaratnam, M.; Munnur, D.; Neidle, S.; Moses, J.E., Targeting telomerase and telomeres: a click chemistry approach towards highly selective G-quadruplex ligands. *Mol. Biosyst.*, **2008**, *4*, 629-642.
97. Kaiser, M.; De Cian, A.; Sainlos, M.; Renner, C.; Mergny, J.L.; Talaude-Fichou, M.P., Neomycin-capped aromatic platforms: quadruplex DNA recognition and telomerase inhibition. *Org. Biomol. Chem.*, **2006**, *4*, 1049-1057.
98. Jantos, K.; Rodriguez, R.; Ladame, S.; Shirude, P.S.; Balasubramanian, S., Oxazole-based peptide macrocycles: A new class of G-quadruplex binding ligands. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 13662-13663.
99. Bugaut, A.; Jantos, K.; Wietor, J.L.; Rodriguez, R.; Sanders, J.K.M.; Balasubramanian, S., Exploring the differential recognition of DNA G-quadruplex targets by small molecules using dynamic combinatorial chemistry. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2008**, *47*, 2677-2680.
100. Shirude, P.S.; Gillies, E.R.; Ladame, S.; Godde, F.; Shin-Ya, K.; Huc, I.; Balasubramanian, S., Macrocyclic and helical oligoamides as a new class of g-quadruplex ligands. *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 11890-11891.
101. Bejugam, M.; Sewitz, S.; Shirude, P.S.; Rodriguez, R.; Shahid, R.; Balasubramanian, S., Trisubstituted isoalloxazines as a new class of G-quadruplex binding ligands: Small molecule regulation of c-kit oncogene expression. *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 12926-12927.
102. Chen, Q.; Kuntz, I.D.; Shafer, R.H., Spectroscopic recognition of guanine dimeric hairpin quadruplexes by a carbocyanine dye. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1996**, *93*, 2635-2639.
103. White, E.W.; Tanious, F.; Ismail, M.A.; Reszka, A.P.; Neidle, S.; Boykin, D.W.; Wilson, W.D., Structure-specific recognition of quadruplex DNA by organic cations: Influence of shape, substituents and charge. *Biophys. Chem.*, **2007**, *126*, 140-153.
104. Izbicka, E.; Wheelhouse, R.T.; Raymond, E.; Davidson, K.K.; Lawrence, R.A.; Sun, D.Y.; Windle, B.E.; Hurley, L.H.; Von Hoff, D.D., Effects of cationic porphyrins as G-quadruplex interactive agents in human tumor cells. *Cancer Res.*, **1999**, *59*, 639-644.
105. Phan, A.T.; Kuryavyi, V.; Gaw, H.Y.; Patel, D.J., Small-molecule interaction with a five-guanine-tract G-quadruplex structure from the human MYC promoter. *Nat. Chem. Biol.*, **2005**, *1*, 167-173.
106. Parkinson, G.N.; Ghosh, R.; Neidle, S., Structural basis for binding of porphyrin to human telomeres. *Biochemistry*, **2007**, *46*, 2390-2397.
107. Goncalves, D.P.N.; Rodriguez, R.; Balasubramanian, S.; Sanders, J.K.M., Tetramethylpyridiniumporphyrazines - a new class of G-quadruplex inducing and stabilising ligands. *Chem. Comm.*, **2006**, 4685-4687.
108. Cookson, J.C.; Heald, R.A.; Stevens, M.F.G., Antitumor polycyclic acridines. 17. Synthesis and pharmaceutical profiles of pentacyclic acridinium salts designed to destabilize telomeric integrity. *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 7198-7207.
109. Salvati, E.; Leonetti, C.; Rizzo, A.; Scarsella, M.; Mottotese, M.; Galati, R.; Sperduti, I.; Stevens, M.F.G.; D'Incalci, M.; Blasco, M.; Chiorino, G.; Bauwens, S.; Horard, B.; Gilson, E.; Stoppacciaro, A.; Zupi, G.; Biroccio, A., Telomere damage induced by the G-quadruplex ligand RHPS4 has an antitumor effect. *J. Clin. Invest.*, **2007**, *117*, 3236-3247.

110. Gavathiotis, E.; Heald, R.A.; Stevens, M.F.G.; Searle, M.S., Recognition and stabilization of quadruplex DNA by a potent new telomerase inhibitor: NMR studies of the 2 : 1 complex of a pentacyclic methylacridinium cation with d(TTAGGGT)(4). *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2001**, *40*, 4749-4751.
111. Koepfel, F.; Riou, J.F.; Laoui, A.; Mailliet, P.; Arimondo, P.B.; Labit, D.; Petitgenet, O.; Helene, C.; Mergny, J.L., Ethidium derivatives bind to G-quartets, inhibit telomerase and act as fluorescent probes for quadruplexes. *Nucleic Acids Res.*, **2001**, *29*, 1087-1096.
112. Douarre, C.; Gomez, D.; Morjani, H.; Zahm, J.M.; O'Donohue, M.F.; Eddabra, L.; Mailliet, P.; Riou, J.F.; Trentesaux, C., Overexpression of Bcl-2 is associated with apoptotic resistance to the G-quadruplex ligand 12459 but is not sufficient to confer resistance to long-term senescence. *Nucleic Acids Res.*, **2005**, *33*, 2192-2203.
113. Lemarteleur, T.; Gomez, D.; Paterski, R.; Mandine, E.; Mailliet, P.; Riou, J.F., Stabilization of the c-myc gene promoter quadruplex by specific ligands' inhibitors of telomerase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2004**, *323*, 802-808.
114. Pennarun, G.; Granotier, C.; Gauthier, L.R.; Gomez, D.; Boussin, F.D., Apoptosis related to telomere instability and cell cycle alterations in human glioma cells treated by new highly selective G-quadruplex ligands. *Oncogene*, **2005**, *24*, 2917-2928.
115. De Cian, A.; Cristofari, G.; Reichenbach, P.; De Lemos, E.; Monchaud, D.; Teulade-Fichou, M.P.; Shin-Ya, K.; Lacroix, L.; Lingner, J.; Mergny, J.L., Reevaluation of telomerase inhibition by quadruplex ligands and their mechanisms of action. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2007**, *104*, 17347-17352.
116. De Cian, A.; DeLemos, E.; Mergny, J.L.; Teulade-Fichou, M.P.; Monchaud, D., Highly efficient G-quadruplex recognition by bisquinolinium compounds. *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 1856-1857.
117. Dixon, I.M.; Lopez, F.; Esteve, J.P.; Tejera, A.M.; Blasco, M.A.; Pratviel, G.; Meunier, B., Porphyrin derivatives for telomere binding and telomerase inhibition. *ChemBioChem*, **2005**, *6*, 123-132.
118. Ren, L.G.; Zhang, A.M.; Huang, J.; Wang, P.; Weng, X.C.; Zhang, L.X.; Liang, F.; Tan, Z.; Zhou, X., Quaternary ammonium zinc phthalocyanine: Inhibiting telomerase by stabilizing G quadruplexes and inducing G-quadruplex structure transition and formation. *ChemBioChem*, **2007**, *8*, 775-780.
119. Reed, J.E.; Arnal, A.A.; Neidle, S.; Vilar, R., Stabilization of G-quadruplex DNA and inhibition of telomerase activity by square-planar nickel(II) complexes. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 5992-5993.
120. Dixon, I.M.; Lopez, F.; Tejera, A.M.; Esteve, J.P.; Blasco, M.A.; Pratviel, G.; Meunier, B., A G-quadruplex ligand with 10000-fold selectivity over duplex DNA. *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 1502-1503.
121. Kieltyka, R.; Fakhoury, J.; Moitessier, N.; Sleiman, H.F., Platinum phenanthroimidazole complexes as G-quadruplex DNA selective binders. *Chem. Eur. J.*, **2008**, *14*, 1145-1154.
122. Reed, J.E.; Neidle, S.; Vilar, R., Stabilisation of human telomeric quadruplex DNA and inhibition of telomerase by a platinum-phenanthroline complex. *Chem. Comm.*, **2007**, 4366-4368.
123. Guddneppanavar, R.; Choudhury, J.R.; Kheradi, A.R.; Steen, B.D.; Saluta, G.; Kucera, G.L.; Day, C.S.; Bierbach, U., Effect of the diamine nonleaving group in platinum-acridinylthiourea conjugates on DNA damage and cytotoxicity. *J. Med. Chem.*, **2007**, *50*, 2259-2263.
124. Rao, L.; Bierbach, U., Kinetically favored platination of adenine in the G-rich human telomeric repeat. *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 15764-15765.

125. Binz, N.; Shalaby, T.; Rivera, P.; Shin-Ya, K.; Grotzer, M.A., Telomerase inhibition, telomere shortening, cell growth suppression and induction of apoptosis by telomestatin in childhood neuroblastoma cells. *Eur. J. Cancer*, **2005**, *41*, 2873-2881.
126. Burger, A.M.; Dai, F.P.; Schultes, C.M.; Reszka, A.P.; Moore, M.J.; Double, J.A.; Neidle, S., The G-quadruplex-interactive molecule BRACO-19 inhibits tumor growth, consistent with telomere targeting and interference with telomerase function. *Cancer Res.*, **2005**, *65*, 1489-1496.
127. Riou, J.F.; Guittat, L.; Mailliet, P.; Laoui, A.; Renou, E.; Petitgenet, O.; Megnin-Chanet, F.; Helene, C.; Mergny, J.L., Cell senescence and telomere shortening induced by a new series of specific G-quadruplex DNA ligands. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2002**, *99*, 2672-2677.
128. Phatak, P.; Cookson, J.C.; Dai, F.; Smith, V.; Gartenhaus, R.B.; Stevens, M.F.G.; Burger, A.M., Telomere uncapping by the G-quadruplex ligand RHPS4 inhibits clonogenic tumour cell growth in vitro and in vivo consistent with a cancer stem cell targeting mechanism. *Br. J. Cancer*, **2007**, *96*, 1223-1233.
129. Leonetti, C.; Scarsella, M.; Rizzo, A.; Salvati, E.; D'Incalci, M.; Stevens, M.F.G.; Stoppacciaro, A.; Gilson, E.; Zupi, G.; Biroccio, A., RHPS4 telomere-interactive molecule: An active antitumoral agent with a high therapeutic index and a favorable integration with camptothecin in preclinical models of solid tumors. *Mol. Cancer Ther.*, **2007**, *6*, 3427S-3427S.
130. Tahara, H.; Shin-ya, K.; Seimiya, H.; Yamada, H.; Tsuruo, T.; Ide, T., G-quadruplex stabilization by telomestatin induces TRF2 protein dissociation from telomeres and anaphase bridge formation accompanied by loss of the 3' telomeric overhang in cancer cells. *Oncogene*, **2006**, *25*, 1955-1966.
131. Gomez, D.; O'Donohue, M.F.; Wenner, T.; Douarre, C.; Macadre, J.; Koebel, P.; Giraud-Panis, M.J.; Kaplan, H.; Kolkes, A.; Shin-Ya, K.; Riou, J.F., The G-quadruplex ligand telomestatin inhibits POT1 binding to Telomeric sequences in vitro and induces GFP-POT1 dissociation from telomeres in human cells. *Cancer Res.*, **2006**, *66*, 6908-6912.
132. Gunaratnam, M.; Greciano, O.; Martins, C.; Reszka, A.P.; Schultes, C.M.; Morjani, H.; Riou, J.F.; Neidle, S., Mechanism of acridine-based telomerase inhibition and telomere shortening. *Biochem. Pharmacol.*, **2007**, *74*, 679-689.
133. Gowan, S.M.; Heald, R.; Stevens, M.F.G.; Kelland, L.R., Potent inhibition of telomerase by small-molecule pentacyclic acridines capable of interacting with G-quadruplexes. *Mol. Pharmacol.*, **2001**, *60*, 981-988.
134. Campbell, N.H.; Parkinson, G.N., Crystallographic studies of quadruplex nucleic acids. *Methods*, **2007**, *43*, 252-263.
135. Clark, G.R.; Pytel, P.D.; Squire, C.J.; Neidle, S., Structure of the first parallel DNA quadruplex-drug complex. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 4066-4067.
136. Campbell, N.H.; Parkinson, G.N.; Reszka, A.P.; Neidle, S., Structural basis of DNA quadruplex recognition by an acridine drug. *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 6722-6724.
137. Parkinson, G.N.; Cuenca, F.; Neidle, S., Topology Conservation and Loop Flexibility in Quadruplex-Drug Recognition: Crystal Structures of Inter- and Intramolecular Telomeric DNA Quadruplex-Drug Complexes. *J. Mol. Biol.*, *In Press*, *Corrected Proof*.
138. Webba da Silva, M., NMR methods for studying quadruplex nucleic acids. *Methods*, **2007**, *43*, 264-277.
139. Gray, D.M.; Wen, J.D.; Gray, C.W.; Repges, R.; Repges, C.; Raabe, G.; Fleischhauer, J., Measured and calculated CD spectra of G-quartets stacked with the same or opposite polarities. *Chirality*, **2008**, *20*, 431-440.

140. Huppert, J., Four-stranded nucleic acids: structure, function and targeting of G-quadruplexes. *Chem. Soc. Rev.*, **2008**, 37, 1375-1384.
141. Rachwal, P.A.; Fox, K.R., Quadruplex melting. *Methods*, **2007**, 43, 291-301.
142. Ragazzon, P.; Chaires, J.B., Use of competition dialysis in the discovery of G-quadruplex selective ligands. *Methods*, **2007**, 43, 313-323.
143. Ragazzon, P.A.; Garbett, N.C.; Chaires, J.B., Competition dialysis: A method for the study of structural selective nucleic acid binding. *Methods*, **2007**, 42, 173-182.
144. Nguyen, B.; Tanious, F.A.; Wilson, W.D., Biosensor-surface plasmon resonance: Quantitative analysis of small molecule-nucleic acid interactions. *Methods*, **2007**, 42, 150-161.
145. Rosu, F.; Gabelica, V.; Shin-ya, K.; De Pauw, E., Telomestatin-induced stabilization of the human telomeric DNA quadruplex monitored by electrospray mass spectrometry. *Chem. Comm.*, **2003**, 2702-2703.
146. Rosu, F.; De Pauw, E.; Gabelica, V., Electrospray mass spectrometry to study drug-nucleic acids interactions. *Biochimie*, **2008**, 90, 1074-1087.
147. Ourliac-Garnier, I.; Elizondo-Riojas, M.A.; Redon, S.; Farrell, N.P.; Bombard, S., Cross-links of quadruplex structures from human telomeric DNA by dinuclear platinum complexes show the flexibility of both structures. *Biochemistry*, **2005**, 44, 10620-10634.
148. Redon, S.; Bombard, S.; Elizondo-Riojas, M.A.; Chottard, J.C., Platinum cross-linking of adenines and guanines on the quadruplex structures of the AG(3)(T(2)AG(3))(3) and (T(2)AG(3))(4) human telomere sequences in Na⁺ and K⁺ solutions. *Nucleic Acids Res.*, **2003**, 31, 1605-1613.
149. Mergny, J.L.; Maurizot, J.C., Fluorescence resonance energy transfer as a probe for G-quartet formation by a telomeric repeat. *ChemBioChem*, **2001**, 2, 124-132.
150. De Cian, A.; Guittat, L.; Kaiser, M.; Sacca, B.; Amrane, S.; Bourdoncle, A.; Alberti, P.; Teulade-Fichou, M.P.; Lacroix, L.; Mergny, J.L., Fluorescence-based melting assays for studying quadruplex ligands. *Methods*, **2007**, 42, 183-195.
151. Monchaud, D.; Allain, C.; Teulade-Fichou, M.P., Development of a fluorescent intercalator displacement assay (G4-FID) for establishing quadruplex-DNA affinity and selectivity of putative ligands. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 4842-4845.
152. Monchaud, D.; Allain, C.; Bertrand, H.; Smargiasso, N.; Rosu, F.; Gabelica, V.; De Cian, A.; Mergny, J.-L.; Teulade-Fichou, M.-P., Ligands playing musical chairs with G-quadruplex DNA: A rapid and simple displacement assay for identifying selective G-quadruplex binders. *Biochimie*, **2008**, 90, 1207-1223.
153. Chakraborty, T.K.; Arora, A.; Roy, S.; Kumar, N.; Maiti, S., Furan based cyclic Oligopeptides selectively target G-quadruplex. *J. Med. Chem.*, **2007**, 50, 5539-5542.
154. Albert, A.; Goldacre, R., The Ionisation of Acridine Bases. *J. Chem. Soc.*, **1946**, 706-713.
155. Turnbull, N.H., Absorption Spectra of Acridines .2. Monoaminoacridines. *J. Chem. Soc.*, **1945**, 441-444.
156. Armaroli, N.; Decola, L.; Balzani, V.; Sauvage, J.P.; Dietrich-Buchecker, C.O.; Kern, J.M., Absorption and Luminescence Properties of 1, 10-Phenanthroline, 2,9-Diphenyl-1, 10-Phenanthroline, 2,9-Dianisyl-1, 10-Phenanthroline and Their Protonated Forms in Dichloromethane Solution. *J. Chem. Soc.-Faraday Trans.*, **1992**, 88, 553-556.
157. Baudoin, O.; TeuladeFichou, M.-P.; Vigneron, J.-P.; Lehn, J.-M., Cyclobisintercaland macrocycles: Synthesis and physicochemical properties of macrocyclic polyamines containing two crescent-shaped dibenzophenanthroline subunits. *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 5458-5470.

158. Dietrich-Buchecker, C.O.; Sauvage, J.-P.; Armaroli, N.; Ceroni, P.; Balzani, V., Protonation-driven formation of a double-stranded structure: A photophysical and H-1-NMR study. *New J. Chem.*, **1996**, *20*, 801-808.
159. Otter, C.A.; Couchman, S.M.; Jeffery, J.C.; Mann, K.L.V.; Psillakis, E.; Ward, M.D., Complexes of a new bidentate chelating pyridyl/sulfonamide ligand with copper(II), cobalt(II) and palladium(II): crystal structures and spectroscopic properties. *Inorg. Chim. Acta*, **1998**, *278*, 178-184.
160. Jeffery, J.C.; Moore, C.S.G.; Psillakis, E.; Ward, M.D.; Thornton, P., The Coordination Chemistry of Mixed Pyridine-Phenol and Phenanthroline-Phenol Ligands - the Crystal-Structure of 2-(2-Hydroxyphenyl)-1,10-Phenanthroline (H1) and the Crystal-Structure and Properties of Fe(2) PF₆. *Polyhedron*, **1995**, *14*, 599-604.
161. Schmitz, F.J.; Deguzman, F.S.; Hossain, M.B.; Vanderhelm, D., Cytotoxic Aromatic Alkaloids from the Ascidian *Amphicarpa-Meridiana* and *Leptoclinides* Sp - Meridine and 11-Hydroxyascididemin. *J. Org. Chem.*, **1991**, *56*, 804-808.
162. Snowden, T.S.; Bisson, A.P.; Anslyn, E.V., A comparison of NH- π versus lone pair hydrogen bonding effects on carbon acid pK(a) shifts. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 6324-6325.
163. Kellyrowley, A.M.; Lynch, V.M.; Anslyn, E.V., Molecular Recognition of Enolates of Active Methylene-Compounds in Acetonitrile - the Interplay between Complementarity and Basicity, and the Use of Hydrogen-Bonding to Lower Guest Pk(a). *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 3438-3447.
164. Roitzsch, M.; Lippert, B., Metal coordination and imine-amine hydrogen bonding as the source of strongly shifted adenine pK(a) values. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 2421-2424.
165. Anorbe, M.G.; Luth, M.S.; Roitzch, M.; Cerda, M.M.; Lax, P.; Kampf, G.; Sigel, H.; Lippert, B., Perturbation of the NH₂ pK(a) value of adenine in platinum(II) complexes: Distinct stereochemical internucleobase effects. *Chem. Eur. J.*, **2004**, *10*, 1046-1057.
166. Hounsou, C., Conception, synthèse et études biologiques de nouveaux inhibiteurs de la télomérase. *Thèse de Doctorat Paris VI*, **2004**.
167. Marathias, V.M.; Bolton, P.H., Structures of the potassium-saturated, 2 : 1, and intermediate, 1 : 1, forms of a quadruplex DNA. *Nucleic Acids Res.*, **2000**, *28*, 1969-1977.
168. Rodriguez, R.; Pantos, G.D.; Goncalves, D.P.N.; Sanders, J.K.M.; Balasubramanian, S., Ligand-driven G-quadruplex conformational switching by using an unusual mode of interaction. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2007**, *46*, 5405-5407.
169. Sissi, C.; Lucatello, L.; Krapcho, A.P.; Maloney, D.J.; Boxer, M.B.; Camarasa, M.V.; Pezzoni, G.; Menta, E.; Palumbo, M., Tri-, tetra- and heptacyclic perylene analogues as new potential antineoplastic agents based on DNA telomerase inhibition. *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15*, 555-562.
170. Chang, C.C.; Chien, C.W.; Lin, Y.H.; Kang, C.C.; Chang, T.C., Investigation of spectral conversion of d(TTAGGG)₄ and d(TTAGGG)₁₃ upon potassium titration by a G-quadruplex recognizer BMVC molecule. *Nucleic Acids Res.*, **2007**, *35*, 2846-2860.
171. Rezler, E.M.; Seenisamy, J.; Bashyam, S.; Kim, M.Y.; White, E.; Wilson, W.D.; Hurley, L.H., Telomestatin and diseleno sapphyrin bind selectively to two different forms of the human telomeric G-quadruplex structure. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 9439-9447.

172. Granzhan, A.; Ihmels, H.; Mikhlin, K.; Deiseroth, H.J.; Mikus, H., Synthesis of substituted diazoniapentaphene salts by an unexpected rearrangement-cyclodehydration sequence. *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**, 4098-4108.
173. Arai, S.; Hida, M., Polycyclic Aromatic Nitrogen Cations. *Adv. Heterocycl. Chem.*, **1992**, 55, 261-358.
174. Granzhan, A.; Bats, J.W.; Ihmels, H., Synthesis and spectroscopic properties of 4a,14a-diazoniaanthra 1,2-a anthracene and 13a,16a-diazoniahexaphene derived from 1,7-dimethylnaphthalene. *Synthesis*, **2006**, 1549-1555.
175. De Cian, A., Identification et caractérisation de ligands de quadruplexes de guanines: cibles les télomères et/ou la télomérase. *Thèse de Doctorat, Paris VI*, **2007**.
176. Da Ros, T.; Spalluto, G.; Boutorine, A.S.; Bensasson, R.V.; Prato, M., DNA-photocleavage agents. *Curr. Pharm. Des.*, **2001**, 7, 1781-1821.
177. Armitage, B., Photocleavage of nucleic acids. *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 1171-1200.
178. Han, F.X.G.; Wheelhouse, R.T.; Hurley, L.H., Interactions of TMPyP4 and TMPyP2 with quadruplex DNA. Structural basis for the differential effects on telomerase inhibition. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 3561-3570.
179. Han, H.Y.; Bennett, R.J.; Hurley, L.H., Inhibition of unwinding of G-quadruplex structures by Sgs1 helicase in the presence of N,N'-bis 2-(1-piperidino)ethyl -3,4,9,10-perylenetetra-carboxylic diimide, a G-quadruplex-interactive ligand. *Biochemistry*, **2000**, 39, 9311-9316.
180. Han, H.Y.; Langley, D.R.; Rangan, A.; Hurley, L.H., Selective interactions of cationic porphyrins with G-quadruplex structures. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 8902-8913.
181. Duan, W.H.; Rangan, A.; Vankayalapati, H.; Kim, M.Y.; Zeng, Q.P.; Sun, D.K.; Han, H.Y.; Fedoroff, O.Y.; Nishioka, D.; Rha, S.Y.; Izbicka, E.; Von Hoff, D.D.; Hurley, L.H., Design and synthesis of fluoroquinophenoxazines that interact with human telomeric G-quadruplexes and their biological effects. *Mol. Cancer Ther.*, **2001**, 1, 103-120.
182. Lewis, F.D.; Letsinger, R.L.; Wasielewski, M.R., Dynamics of photoinduced charge transfer and hole transport in synthetic DNA hairpins. *Acc. Chem. Res.*, **2001**, 34, 159-170.
183. Fukuzumi, S.; Miyao, H.; Ohkubo, K.; Suenobu, T., Electron-transfer oxidation properties of DNA bases and DNA oligomers. *J. Phys. Chem. A*, **2005**, 109, 3285-3294.
184. Burrows, C.J.; Muller, J.G., Oxidative Nucleobase Modifications Leading to Strand Scission. *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 1109-1152.
185. Jennette, K.W.; Lippard, S.J.; Vassiliades, G.A.; Bauer, W.R., Metallointercalation Reagents. 2-Hydroxyethanethiolato(2,2',2''-terpyridine)-platinum(II) Monocation Binds Strongly to DNA By Intercalation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1974**, 71, 3839-3843.
186. Boerner, L.J.K.; Zaleski, J.M., Metal complex-DNA interactions: from transcription inhibition to photoactivated cleavage. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2005**, 9, 135-144.
187. Richards, A.D.; Rodger, A., Synthetic metallomolecules as agents for the control of DNA structure. *Chem. Soc. Rev.*, **2007**, 36, 471-483.
188. Schubert, U.; Hofmeier, H.; Newkome, G.R., *Modern terpyridine chemistry*. 2006, Weinheim: Wiley-VCH. viii, 229 p.
189. Eryazici, I.; Moorefield, C.N.; Newkome, G.R., Square-Planar Pd(II), Pt(II), and Au(III) Terpyridine Complexes: Their Syntheses, Physical Properties, Supramolecular Constructs, and Biomedical Activities. *Chem. Rev.*, **2008**, 108, 1834-1895.
190. Hofmeier, H.; Schubert, U.S., Recent developments in the supramolecular chemistry of terpyridine-metal complexes. *Chem. Soc. Rev.*, **2004**, 33, 373-399.

191. Constable, E.C., 2,2': 6',2"-terpyridines: From chemical obscurity to common supramolecular motifs. *Chem. Soc. Rev.*, **2007**, 36, 246-253.
192. Constable, E.C., Expanded ligands - An assembly principle for supramolecular chemistry. *Coord. Chem. Rev.*, **2008**, 252, 842-855.
193. Wong, K.M.C.; Yam, V.W.W., Luminescence platinum(II) terpyridyl complexes - From fundamental studies to sensory functions. *Coord. Chem. Rev.*, **2007**, 251, 2477-2488.
194. Peyratout, C.S.; Aldridge, T.K.; Crites, D.K.; McMillin, D.R., DNA-Binding Studies of a Bifunctional Platinum Complex That Is a Luminescent Intercalator. *Inorg. Chem.*, **1995**, 34, 4484-4489.
195. Howegrant, M.; Wu, K.C.; Bauer, W.R.; Lippard, S.J., Binding of Platinum and Palladium Metallointercalation Reagents and Antitumor Drugs to Closed and Open Dnas. *Biochemistry*, **1976**, 15, 4339-4346.
196. McCoubrey, A.; Latham, H.C.; Cook, P.R.; Rodger, A.; Lowe, G., 4-Picoline-2,2':6',2"-terpyridine-platinum(II) - A potent intercalator of DNA. *FEBS Lett.*, **1996**, 380, 73-78.
197. Lowe, G.; Droz, A.S.; Vilaivan, T.; Weaver, G.W.; Tweedale, L.; Pratt, J.M.; Rock, P.; Yardley, V.; Croft, S.L., Cytotoxicity of (2,2': 6',2" terpyridine) platinum(II) complexes to *Leishmania donovani*, *Trypanosoma cruzi*, and *Trypanosoma brucei*. *J. Med. Chem.*, **1999**, 42, 999-1006.
198. Inhoff, O.; Richards, J.M.; Briet, J.W.; Lowe, G.; Krauth-Siegel, R.L., Coupling of a competitive and an irreversible ligand generates mixed type inhibitors of *Trypanosoma cruzi* trypanothione reductase. *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 4524-4530.
199. Hannon, M.J.; Green, P.S.; Fisher, D.M.; Derrick, P.J.; Beck, J.L.; Watt, S.J.; Ralph, S.F.; Sheil, M.M.; Barker, P.R.; Alcock, N.W.; Price, R.J.; Sanders, K.J.; Pither, R.; Davis, J.; Rodger, A., An estrogen-platinum terpyridine conjugate: DNA and protein binding and cellular delivery. *Chem. Eur. J.*, **2006**, 12, 8000-8013.
200. Cusumano, M.; Di Pietro, M.L.; Glannetto, A.; Vainiglia, P.A., DNA and RNA noncovalent interaction of Platinum(II) polypyridine complexes. *Inorg. Chem.*, **2007**, 46, 7148-7153.
201. Jiang, C.W.; Chao, H.; Li, H.; Ji, L.N., Syntheses, characterization and DNA-binding studies of ruthenium(II) terpyridine complexes: Ru(tpy)(PHBI) (2+) and Ru(tpy)(PHNI) (2+). *J. Inorg. Biochem.*, **2003**, 93, 247-255.
202. Uma, V.; Kanthimathi, M.; Weyhermuller, T.; Nair, B.U., Oxidative DNA cleavage mediated by a new copper(II) terpyridine complex: Crystal structure and DNA binding studies. *J. Inorg. Biochem.*, **2005**, 99, 2299-2307.
203. Paul, J.; Spey, S.; Adams, H.; Thomas, J.A., Synthesis and structure of rhodium complexes containing extended terpyridyl ligands. *Inorg. Chim. Acta*, **2004**, 357, 2827-2832.
204. Kisko, J.L.; Barton, J.K., Recognition of DNA base pair mismatches by a cyclometalated Rh(III) intercalator. *Inorg. Chem.*, **2000**, 39, 4942-4949.
205. Zeglis, B.M.; Pierre, V.C.; Barton, J.K., Metallo-intercalators and metallo-insertors. *Chem. Comm.*, **2007**, 4565-4579.
206. Annibale, G.; Brandolisio, M.; Pitteri, B., New Routes for the Synthesis of Chloro(Diethylenetriamine)Platinum(II)Chloride and Chloro(2,2'/6',2"-Terpyridine)Platinum(II) Chloride Dihydrate. *Polyhedron*, **1995**, 14, 451-453.
207. Newkome, G.R.; Cho, T.J.; Moorefield, C.N.; Cush, R.; Russo, P.S.; Godinez, L.A.; Saunders, M.J.; Mohapatra, P., Hexagonal terpyridine-ruthenium and -iron macrocyclic complexes by stepwise and self-assembly procedures. *Chem. Eur. J.*, **2002**, 8, 2946-2954.

208. Cini, R.; Donati, A.; Giannettoni, R., Synthesis and structural characterization of chloro(2,2';6',2''-terpyridine)platinum trichloro(dimethylsulfoxide)platinate(II). Density functional analysis of model molecules. *Inorg. Chim. Acta*, **2001**, 315, 73-80.
209. Buchner, R.; Cunningham, C.T.; Field, J.S.; Haines, R.J.; McMillin, D.R.; Summerton, G.C., Luminescence properties of salts of the Pt(4'-Ph-terpy)Cl (+) chromophore: crystal structure of the red form of Pt(4'-Ph-terpy)Cl BF₄ (4'-Ph-terpy=4'-phenyl-2,2': 6',2''-terpyridine). *J. Chem. Soc.-Dalton Trans.*, **1999**, 711-717.
210. Henke, W.; Kremer, S.; Reinen, D., Cu-2+ in 5-Coordination - a Case of a 2nd-Order Jahn-Teller Effect .1. Structure and Spectroscopy of the Compounds Cu(Terpy)X₂.nH₂O. *Inorg. Chem.*, **1983**, 22, 2858-2863.
211. Chaurin, V.; Constable, E.C.; Housecroft, C.E., What is the coordination number of copper(II) in metallosupramolecular chemistry? *New J. Chem.*, **2006**, 30, 1740-1744.
212. Vlasse, M.; Rojo, T.; Beltranporter, D., Structure of Dichloro(Terpyridyl-2-2',6'-2'')Zinc(II), Form-I, Zn(C₁₅H₁₁N₃)Cl₂. *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.*, **1983**, 39, 560-563.
213. Zibaseresht, R.; Hartshorn, R.M., Coordination chemistry of a terpyridine-tris(pyrazolyl) ditopic ligand. *Dalton Trans.*, **2005**, 3898-3908.
214. Laurent, F.; Plantalech, E.; Donnadiou, B.; Jimenez, A.; Hernandez, F.; Martinez-Ripoll, M.; Biner, M.; Llobet, A., Synthesis, structure and redox properties of ruthenium complexes containing the tpm facial and the trpy meridional tridentate ligands - Crystal structures of RuCl₃(trpy) and Ru(tpm)(py)(3) (PF₆)(2). *Polyhedron*, **1999**, 18, 3321-3331.
215. Rosenberg, B.; Van Camp, L.; Krigas, T., Inhibition of cell division in Escherichia Coli by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature*, **1965**, 205, 698-699.
216. Johnson, S.W.; Ferry, K.V.; Hamilton, T.C., Recent insights into platinum drug resistance in cancer. *Drug Resistance Updates*, **1998**, 1, 243-254.
217. Brabec, V.; Kasparkova, J., Molecular aspects of resistance to antitumor platinum drugs. *Drug Resistance Updates*, **2002**, 5, 147-161.
218. Brabec, V.; Kasparkova, J., Modifications of DNA by platinum complexes - Relation to resistance of tumors to platinum antitumor drugs. *Drug Resistance Updates*, **2005**, 8, 131-146.
219. Heffeter, P.; Jungwirth, U.; Jakupec, M.; Hartinger, C.; Galanski, M.; Elbling, L.; Micksche, M.; Keppler, B.; Berger, W., Resistance against novel anticancer metal compounds: Differences and similarities. *Drug Resistance Updates*, **2008**, 11, 1-16.
220. Wong, E.; Giandomenico, C.M., Current status of platinum-based antitumor drugs. *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 2451-2466.
221. Hall, M.D.; Hambley, T.W., Platinum(IV) antitumour compounds: their bioinorganic chemistry. *Coord. Chem. Rev.*, **2002**, 232, 49-67.
222. Wheate, N.J.; Collins, J.G., Multi-nuclear platinum complexes as anti-cancer drugs. *Coord. Chem. Rev.*, **2003**, 241, 133-145.
223. Wang, X.Y.; Guo, Z.J., Towards the rational design of platinum(II) and gold(III) complexes as antitumour agents. *Dalton Trans.*, **2008**, 1521-1532.
224. Jakupec, M.A.; Galanski, M.; Arion, V.B.; Hartinger, C.G.; Keppler, B.K., Antitumour metal compounds: more than theme and variations. *Dalton Trans.*, **2008**, 183-194.
225. Jamieson, E.R.; Lippard, S.J., Structure, recognition, and processing of cisplatin-DNA adducts. *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 2467-2498.
226. Reedijk, J., Why does cisplatin reach guanine-N7 with competing S-donor ligands available in the cell? *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 2499-2510.

227. Fuertes, M.A.; Alonso, C.; Perez, J.M., Biochemical modulation of cisplatin mechanisms of action: Enhancement of antitumor activity and circumvention of drug resistance. *Chem. Rev.*, **2003**, *103*, 645-662.
228. Chaney, S.G.; Campbell, S.L.; Bassett, E.; Wu, Y.B., Recognition and processing of cisplatin- and oxaliplatin-DNA adducts. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **2005**, *53*, 3-11.
229. Wang, D.; Lippard, S.J., Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat. Rev. Drug Discovery*, **2005**, *4*, 307-320.
230. Siddik, Z.H., Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene*, **2003**, *22*, 7265-7279.
231. Jung, Y.W.; Lippard, S.J., Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage. *Chem. Rev.*, **2007**, *107*, 1387-1407.
232. Sedletska, Y.; Giraud-Panis, M.-J.; Malinge, J.-M., Cisplatin is a DNA-damaging antitumour compound triggering multifactorial biochemical responses in cancer cells: importance of apoptotic pathways. *Curr Med Chem Anticancer Agents.*, **2005**, *5*, 251-265.
233. Kelland, L., The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nat. Rev. Cancer*, **2007**, *7*, 573-584.
234. Demeunynck, M.; Bailly, C.; Wilson, W.D., *Small molecule DNA and RNA binders : from synthesis to nucleic acid complexes*. Vol. 1. 2003, Weinheim: Wiley-VCH. 178-223.
235. van Zutphen, S.; Reedijk, J., Targeting platinum anti-tumour drugs: Overview of strategies employed to reduce systemic toxicity. *Coord. Chem. Rev.*, **2005**, *249*, 2845-2853.
236. Bruijninx, P.C.A.; Sadler, P.J., New trends for metal complexes with anticancer activity. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2008**, *12*, 197-206.
237. Bowler, B.E.; Ahmed, K.J.; Sundquist, W.I.; Hollis, L.S.; Whang, E.E.; Lippard, S.J., Synthesis, Characterization, and DNA-Binding Properties of (1,2-Diaminoethane)Platinum(II) Complexes Linked to the DNA Intercalator Acridine-Orange by Trimethylene and Hexamethylene Chains. *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, *111*, 1299-1306.
238. Barry, C.G.; Day, C.S.; Bierbach, U., Duplex-promoted platination of adenine-N3 in the minor groove of DNA: Challenging a longstanding bioinorganic paradigm. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 1160-1169.
239. Villa, R.; Folini, M.; Perego, P.; Supino, R.; Setti, E.; Daidone, M.G.; Zunino, F.; Zaffaroni, N., Telomerase activity and telomere length in human ovarian cancer and melanoma cell lines: Correlation with sensitivity to DNA damaging agents. *Int. J. Oncol.*, **2000**, *16*, 995-1002.
240. Jeyapalan, J.C.; Saretzki, G.; Leake, A.; Tilby, M.J.; von Zglinicki, T., Tumour-cell apoptosis after cisplatin treatment is not telomere dependent. *Int. J. Cancer*, **2006**, *118*, 2727-2734.
241. Ourliac-Garnier, I.; Poulet, A.; Amiard, S.; Gilson, E.; Giraud-Panis, M.J.; Bombard, S., *unpublished results*.
242. Ishibashi, T.; Lippard, S.J., Telomere loss in cells treated with cisplatin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1998**, *95*, 4219-4223.
243. Zhang, G.; Zhang, R.P.; Wang, X.N.; Xie, H., Effects of cisplatin on telomerase activity and telomere length in BEL-7404 human hepatoma cells. *Cell Research*, **2002**, *12*, 55-62.
244. Colangelo, D.; Osella, D., Telomerase inhibition and cancer: Might platinum based drugs have a future as anti-telomerase pharmacological approach? *Curr. Med. Chem.*, **2005**, *12*, 3091-3102.

245. Cavigiolio, G.; Benedetto, L.; Boccaleri, E.; Colangelo, D.; Viano, I.; Osella, D., Pt(II) complexes with different N-donor aromatic ligands for specific inhibition of telomerase. *Inorg. Chim. Acta*, **2000**, *305*, 61-68.
246. Colangelo, D.; Ghiglia, A.L.; Viano, I.; Cavigiolio, G.; Osella, D., Cis-Pt(Cl)(2)(pyridine)(5-SO₃H-isoquinoline) complex, a selective inhibitor of telomerase enzyme. *Biometals*, **2003**, *16*, 553-560.
247. Furuta, M.; Nozawa, K.; Takemura, M.; Izuta, S.; Murate, T.; Tsuchiya, M.; Yoshida, K.; Taka, N.; Nimura, Y.; Yoshida, S., A novel platinum compound inhibits telomerase activity in vitro and reduces telomere length in a human hepatoma cell line. *Int. J. Cancer*, **2003**, *104*, 709-715.
248. Burger, A.M.; Fiebig, H.H.; Harnden, P., Telomerase activity and telomere length in testicular cancer tissues and residual tumor mass after cisplatin based chemotherapy. *Eur. J. Cancer*, **1997**, *33*, 158-158.
249. Raymond, E.; Sun, D.; Izbicka, E.; Mangold, G.; Silvas, E.; Windle, B.; Sharma, S.; Soda, H.; Laurence, R.; Davidson, K.; Von Hoff, D.D., A human breast cancer model for the study of telomerase inhibitors based on a new biotinylated-primer extension assay. *Br. J. Cancer*, **1999**, *80*, 1332-1341.
250. Akiyama, M.; Horiguchi-Yamada, J.; Saito, S.; Hoshi, Y.; Yamada, O.; Mizoguchi, H.; Yamada, H., Cytostatic concentrations of anticancer agents do not affect telomerase activity of leukaemic cells in vitro. *Eur. J. Cancer*, **1999**, *35*, 309-315.
251. Akeshima, R.; Kigawa, J.; Takahashi, M.; Oishi, T.; Kanamori, Y.; Itamochi, H.; Shimada, M.; Kamazawa, S.; Sato, S.; Terakawa, N., Telomerase activity and p53-dependent apoptosis in ovarian cancer cells. *Br. J. Cancer*, **2001**, *84*, 1551-1555.
252. Bombard, S., *Metal Complexes-DNA Interactions*. Vol. in press: Wiley Blackwell.
253. Redon, S.; Bombard, S.; Elizondo-Riojas, M.A.; Chottard, J.C., Platination of the (T(2)G(4))(4) telomeric sequence: A structural and cross-linking study. *Biochemistry*, **2001**, *40*, 8463-8470.
254. Lartia, R.; Bertrand, H.; Teulade-Fichou, M.P., Improved synthesis of quinacridine derivatives. *Synlett*, **2006**, 610-614.
255. Heetebrij, R.J.; Talman, E.G.; Von Velzen, M.A.; Von Gijlswijk, R.P.M.; Snoeijers, S.S.; Schalk, M.; Wiegant, J.; Von der Rijke, F.; Kerkhoven, R.M.; Raap, A.K.; Tanke, H.J.; Reedijk, J.; Houthoff, H.J., Platinum(II)-based coordination compounds as nucleic acid labeling reagents: Synthesis, reactivity, and applications in hybridization assays. *ChemBioChem*, **2003**, *4*, 573-583.
256. Houthoff, H.J.; Reedijk, J.; Jelsma, T.; van Es, R.M.; Van den Berg, F.M.; Lempers, E.L.M.; Bloemink, M.J., Methods for the production of platinum-based linkers between labels and bio-organic molecules, for labelling bio-organic molecules, for detecting biological substances of interest and diagnostic test kits, WO 96/35696, 14.11.96
257. Garnier, I.O.; Bombard, S., GG sequence of DNA and the human telomeric sequence react with cis-diammine-diaquaplatinum at comparable rates. *J. Inorg. Biochem.*, **2007**, *101*, 514-524.

Publications

Une partie de ce travail a fait l'objet de publications :

- publications dans des revues internationales avec comité de lecture :

- Monchaud D., Allain C., Bertrand H., Smargiasso N., Rosu F., Gabelica V., De Cian A., Mergny J.-L., Teulade-Fichou M.-P., Ligands playing musical chairs with G-quadruplex DNA: A rapid and simple displacement assay for identifying selective G-quadruplex binders. *Biochimie* **2008**, 90, 1207-1223.

- Bertrand H., Bombard S., Monchaud D., Teulade-Fichou M.-P., A platinum-quinacridine hybrid as a G-quadruplex ligand. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2007**, 12 (7), 1003-1014.

- Bertrand H., Monchaud D., de Cian A., Mergny J.-L., Teulade-Fichou M.-P., The importance of metal geometry in the recognition of G-quadruplex-DNA by metal-terpyridine complexes. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 5 (16), 2555-2559.

- Lartia R., Bertrand H., Teulade-Fichou M.-P., Improved synthesis of quinacridine derivatives. *Synlett* **2006**, 4, 610-614.

- articles en préparation :

- Bertrand H., Guillot R., Teulade-Fichou M.-P., Fichou D., Triazatrinaphthylene derivatives : synthesis and 2D self-assembling properties (*en préparation*).

- Bertrand H., Bombard S., Monchaud D., Teulade-Fichou M.-P., Platinum complexes targeting the loops of human telomeric G-quadruplex (*en préparation*).

- Bertrand H., Monchaud D., Geudin A., Mergny J.-L., Teulade-Fichou M.-P., Triscationic star-shaped TrisK as novel G-quadruplex stabilizing agents (*en préparation*).

Annexes

Annexe A :

FRET comparatif des Trisamino-TrisK **9-14 a-b** en conditions riches en sodium et en potassium.

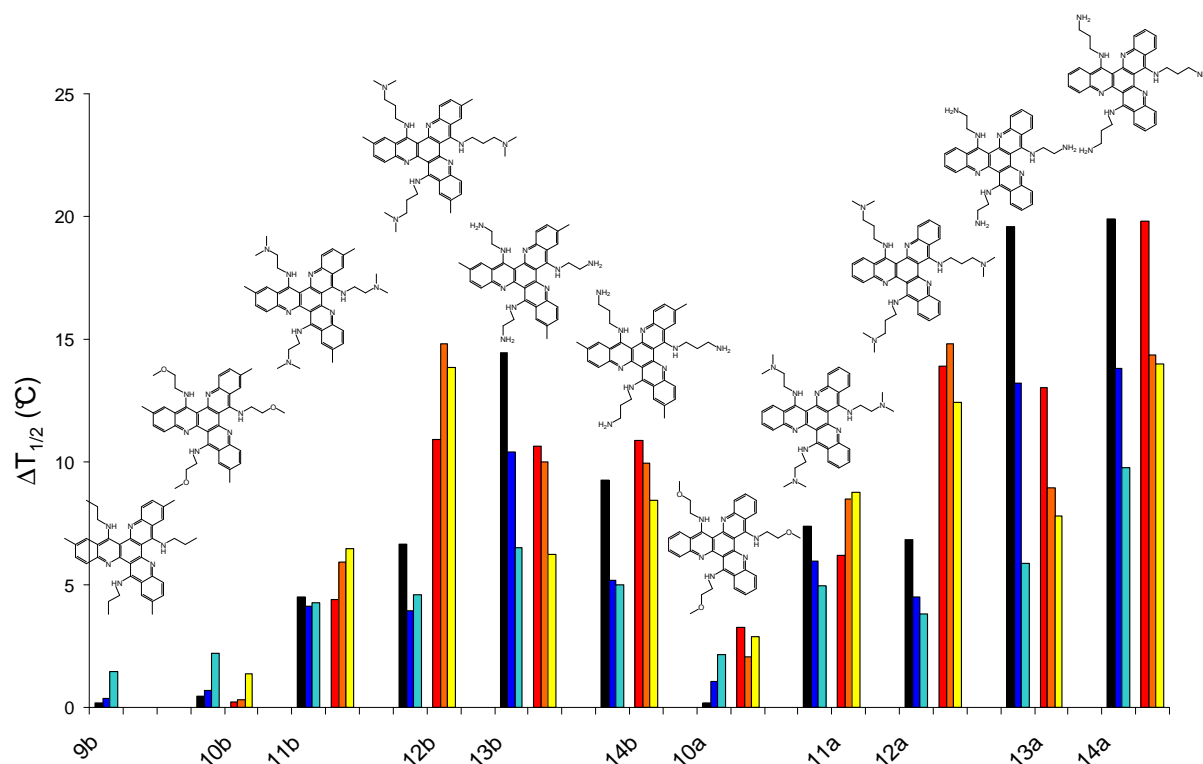


Figure 134. Résultats de FRET-melting en conditions sodium et en conditions potassium pour les Trisamino-TrisK **9-14 a-b**. Conditions expérimentales : 0.2 μ M F21T, 1 μ M ligand, sans (barres noires et rouges), avec 3 μ M (barres bleues foncées et oranges) et 10 μ M (barres bleues claires et jaunes) ds26, tampon cacodylate de lithium 10mM, 100mM NaCl (barres noires et bleues) ou 90mM LiCl, 10mM KCl (barres rouges, oranges et jaunes), pH 7.2.

		9b	10b	11b	12b	13b	14b	10a	11a	12a	13a	14a
Na ⁺	$\Delta T_{1/2}$ (°C)	0.2	0.5	4.5	6.6	14.4	9.2	0.2	7.4	6.8	19.6	19.9
	$\Delta T_{1/2}$ (3 μ M) (°C)	- ^a	-	4.1	3.9	10.4	5.2	-	5.9	4.5	13.3	13.8
	$\Delta T_{1/2}$ (10 μ M) (°C)	-	-	4.2	4.5	6.5	5.0	-	4.9	3.8	5.9	9.8
	S ₃ ^b	-	-	0.92	0.59	0.72	0.56	-	0.80	0.65	0.67	0.69
	S ₁₀	-	-	0.95	0.68	0.45	0.53	-	0.67	0.55	0.30	0.49
K ⁺	$\Delta T_{1/2}$ (°C)	0	0.2	4.4	10.9	10.6	10.8	3.3	6.2	13.9	13.0	19.8
	$\Delta T_{1/2}$ (3 μ M) (°C)	-	-	5.9	14.8	10.0	9.9	2.1	8.5	14.8	8.9	14.4
	$\Delta T_{1/2}$ (10 μ M) (°C)	-	-	6.4	13.8	6.5	8.4	2.9	8.8	12.4	7.8	14.0
	S ₃	-	-	x ^c	x	0.94	0.92	-	x	1.0	0.68	0.73
	S ₁₀	-	-	x	x	0.61	0.78	-	x	0.89	0.6	0.71

Tableau 18. Résultats de FRET-melting en conditions sodium et potassium pour les Trisamino-TrisK **9-14 a-b**. ^a non déterminé (car $\Delta T_{1/2}$ (sans ds26)<3°C), ^b coefficients de sélectivité définis comme : $S_3 = \Delta T_{1/2}(+3\mu\text{M ds26}) / \Delta T_{1/2}(\text{sans ds26})$ et $S_{10} = \Delta T_{1/2}(+10\mu\text{M ds26}) / \Delta T_{1/2}(\text{sans ds26})$. ^c valeur non reportée car >1.0, due aux erreurs expérimentales.

Annexe B :

Résultats du test G4-FID des Trisamino-TrisK **13a** et **14a** en conditions sodium et potassium

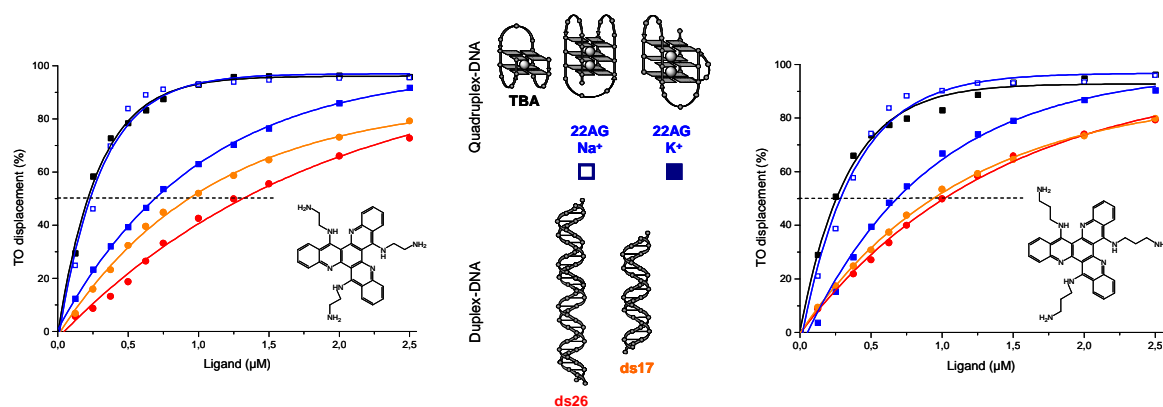


Figure 135. Résultats du test G4-FID pour les TrisK **13a** (gauche) et **14a** (droite). Conditions expérimentales : 0.5 μ M (pour TBA, 22AG et ds17) et 0.75 μ M (pour ds26) TO, 0.25 μ M ADN (22AG (courbes bleues), TBA (courbe noire), ds17 (courbe orange) et ds26 (courbe rouge)) et concentration croissante de ligand (de 0 à 10 μ équ.), tampon cacodylate de sodium 10mM, 100mM NaCl (22AG Na⁺) ou 100mM KCl (22AG K⁺, TBA, ds17, ds26), pH 7.4.

	G^4DC_{50} (μM)		$dsDC_{50}$ (μM)		Sélectivité ^a			
	22AG K ⁺	22AG Na ⁺	ds17	Ds26	22AG K ⁺ /ds17	22AG K ⁺ /ds26	22AG Na ⁺ /ds17	22AG Na ⁺ /ds26
13a	0.68	0.26	0.93	1.26	1.4	1.8	3.6	4.8
14a	0.67	0.31	0.95	1.01	1.4	1.6	3.1	3.2

Tableau 19. Résultats des tests G4-FID pour les TrisKs **13a** et **14a**. Erreurs expérimentales estimées à $\pm 5\%$. ^a Sélectivité = $dsDC_{50}/G^4DC_{50}$.

Annexe C :

Etudes de dichroïsme circulaire (CD) du Trisamino-TrisK **13a**

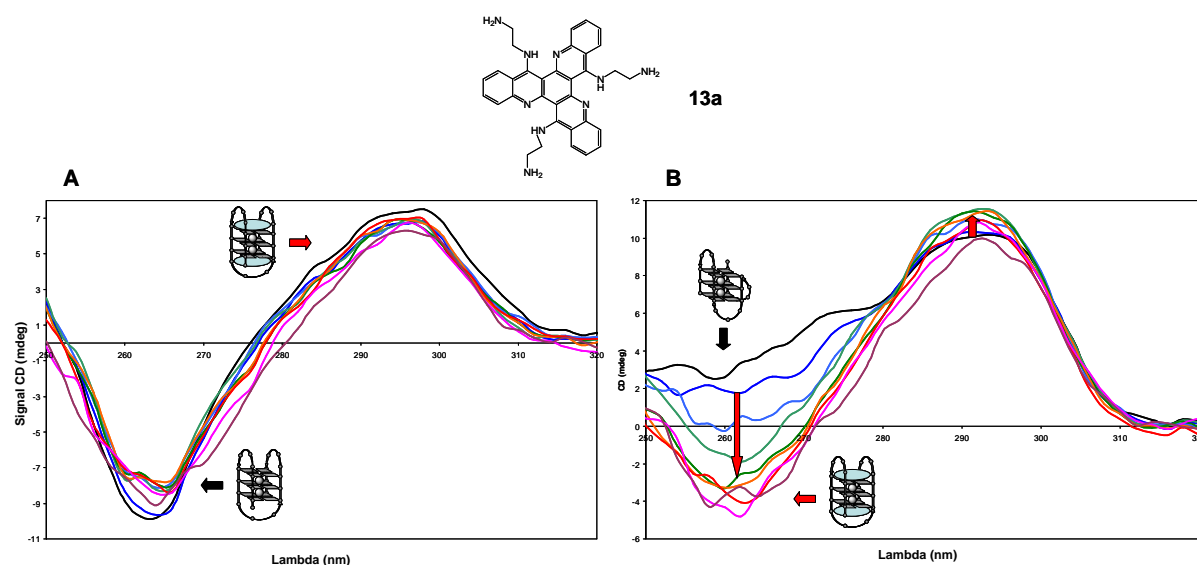


Figure 136. Etudes de dichroïsme circulaire avec le TrisK **13a**. Conditions expérimentales : 3 μM G-quadruplexe 22AG, tampon cacodylate de sodium 10mM, 100mM NaCl (**A**) ou 100mM KCl (**B**) avec concentrations croissantes de **13a** (0 (noir), 0.5 (bleu foncé), 1.0 (bleu clair), 1.5 (vert clair), 2.0 (vert foncé), 2.5 (orange), 3.0 (rouge), 4.0 (rose) et 5.0équival (violet)).

Annexe D :

Résultats de G4-FID des complexes de cuivre et de platine **21-26** avec le TBA.

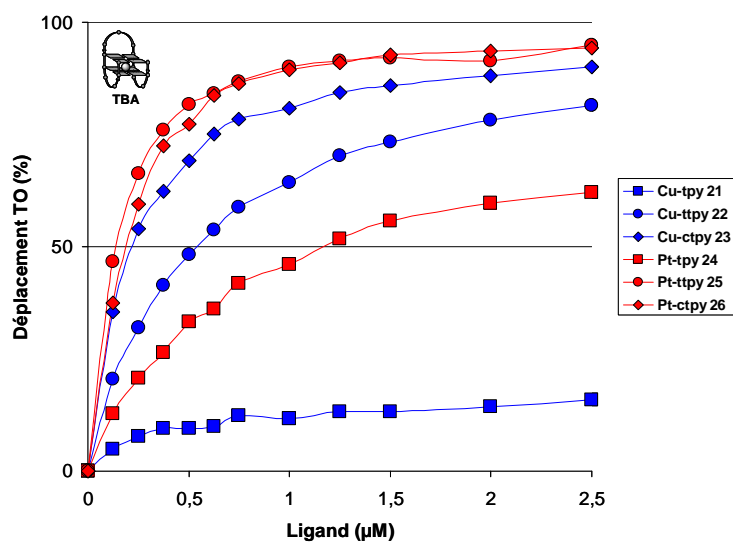


Figure 137. Résultats en test G4-FID des complexes de cuivre et de platine **21-26** avec le G-quadruplexe TBA. Conditions expérimentales : 0.5μM TO, 0.25μM ADN et concentration croissante de ligand (de 0 à 10équiv.), tampon cacodylate de sodium 10mM, 100mM KCl, pH 7.4.

Annexe E :

Résultats de G4-FID des complexes de cuivre **22-23** et de platine **25-26**.

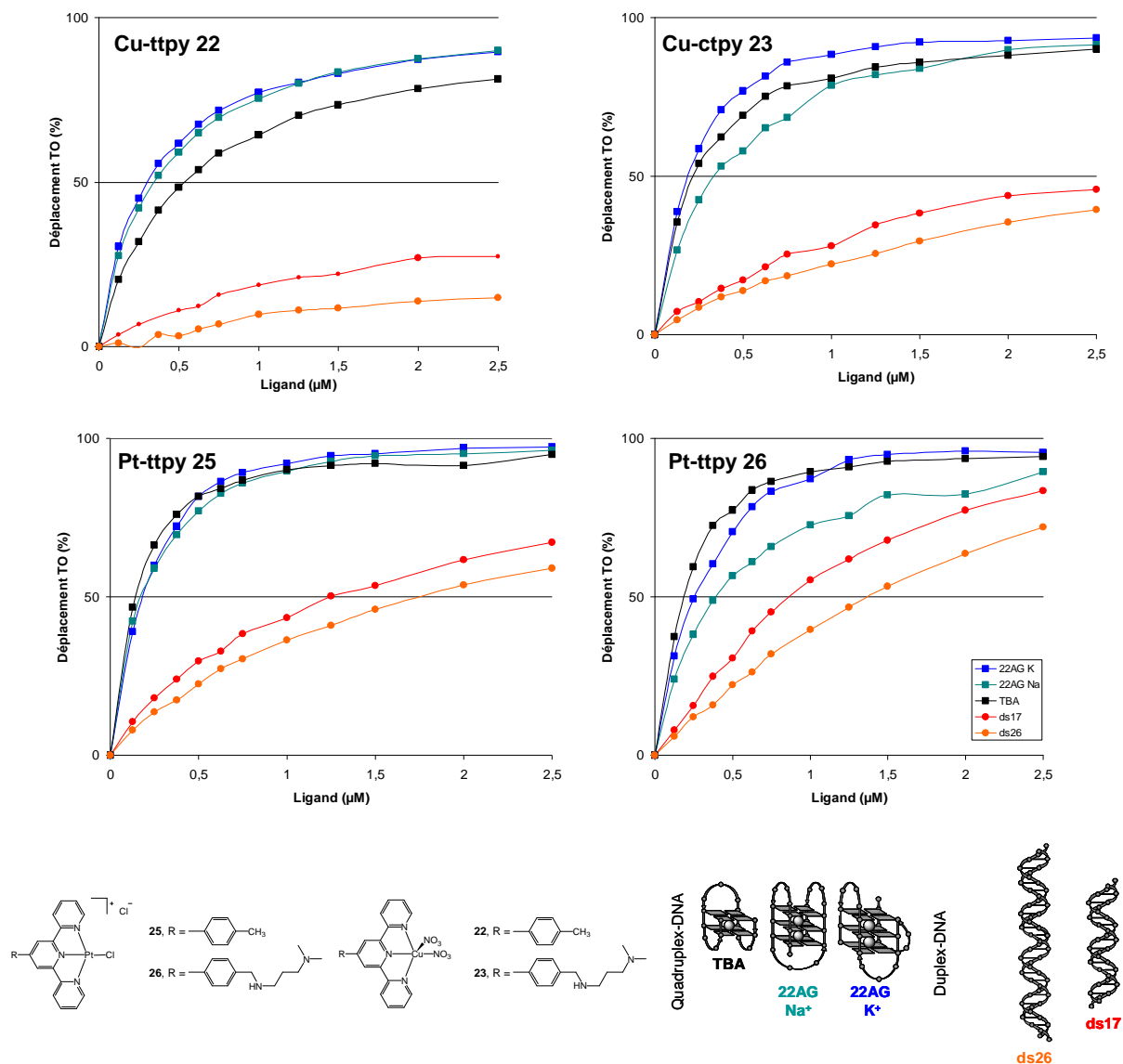


Figure 138. Résultats en test G4-FID des complexes de cuivre **22-23** et de platine **25-26**. Conditions expérimentales : 0.5μM (pour TBA, 22AG et ds17) et 0.75μM (pour ds26) TO, 0.25μM ADN (22AG (courbes bleue et verte), TBA (courbe noire), ds17 (courbe rouge) et ds26 (courbe orange)) et concentration croissante de ligand (de 0 à 10équiv.), tampon cacodylate de sodium 10mM, 100mM NaCl (22AG Na⁺) ou 100mM KCl (22AG K⁺, TBA, ds17, ds26), pH 7.4.

Annexe F :

Courbes FRET des dérivés de terpyridines **18-20** et des complexes métalliques associés **21-28**

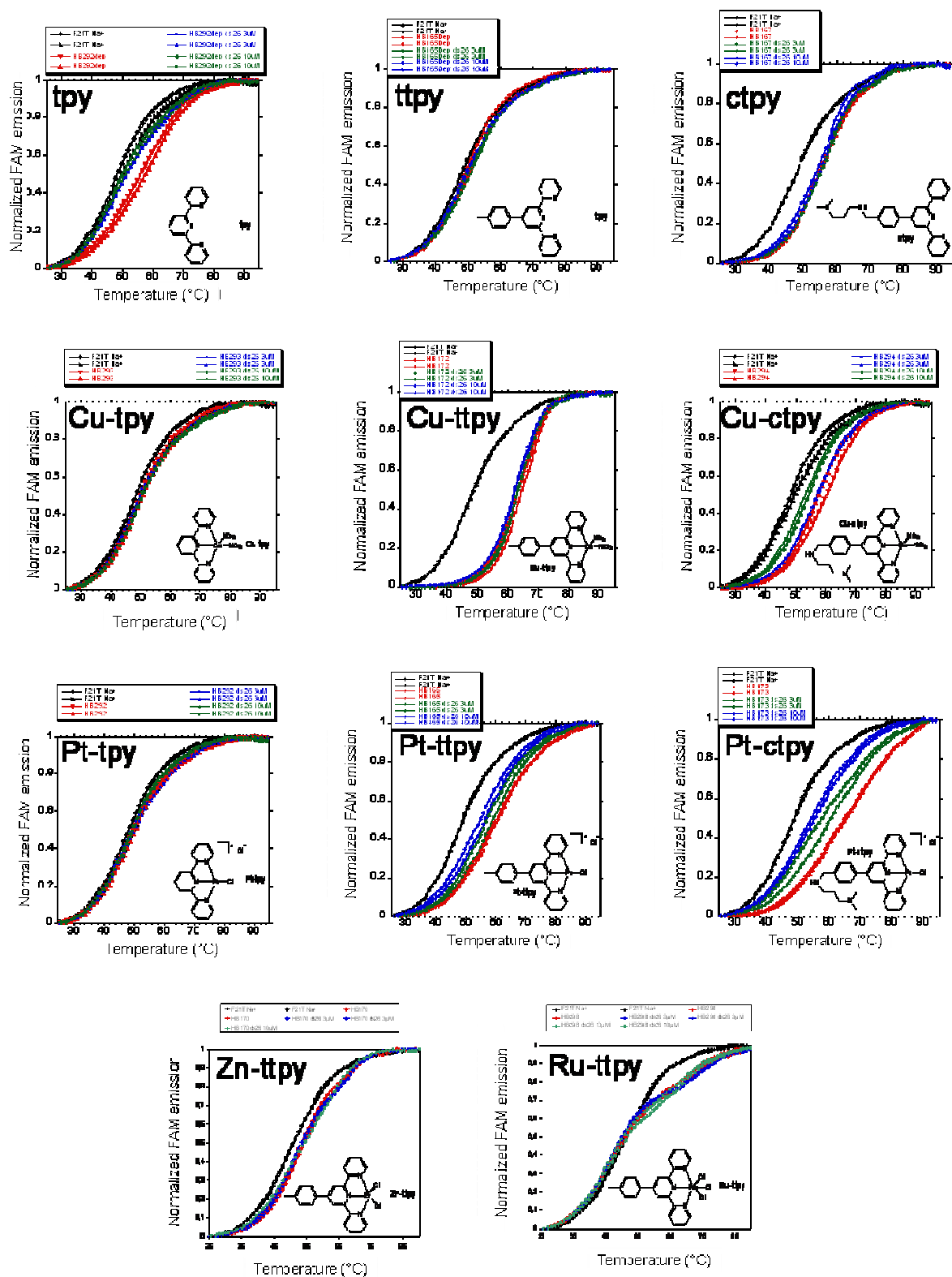


Figure 139. Courbes FRET en conditions sodium des terpyridines **18-20** et des complexes métalliques associés **21-28** : F21T (0.2μM, courbes noires), F21T + ligand (1μM, courbes rouges), F21T + ligand + 3μM ds26 (courbes vertes) et F21T + ligand + 10μM ds26 (courbes bleues)

Annexe G :

Etudes de dichroïsme circulaire des complexes **Pt-ttpty 25** et **Cu-ttpty 22**

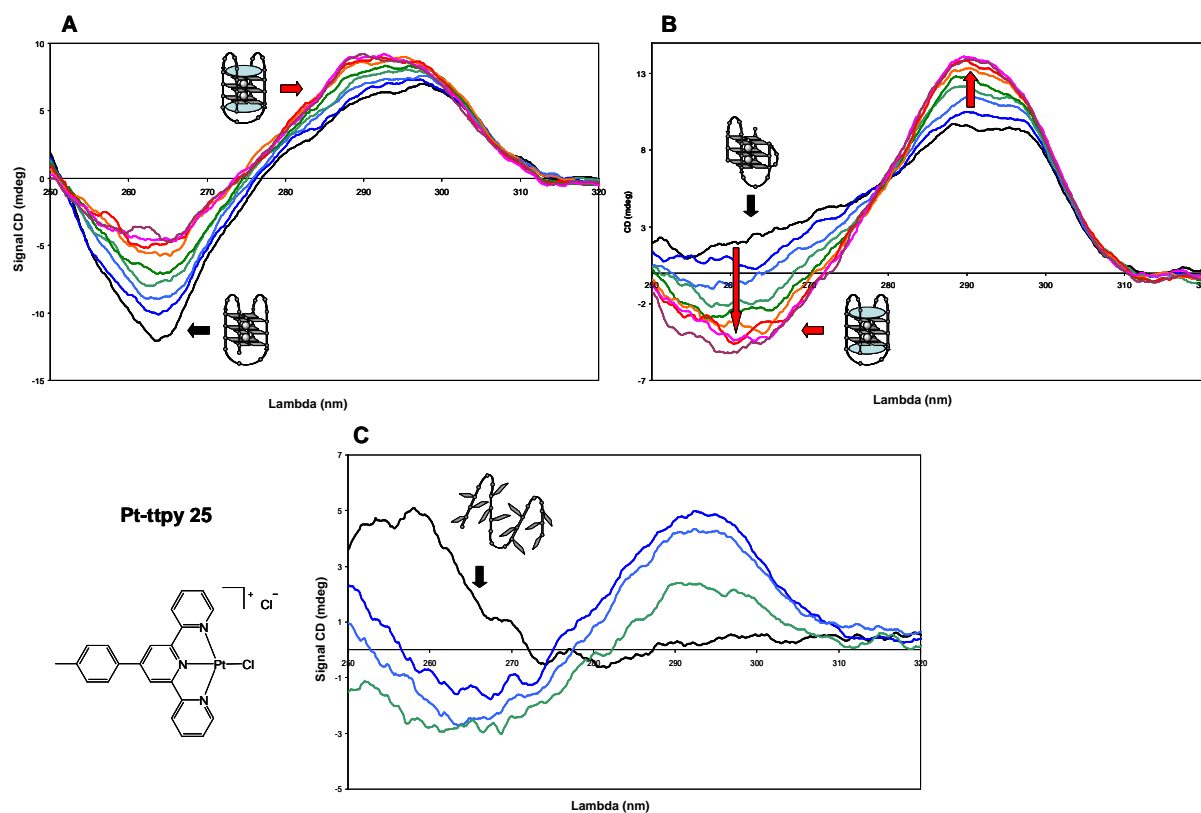


Figure 140. Etudes de dichroïsme circulaire avec le complexe **Pt-ttpty 25**. Conditions expérimentales : 3 μ M G-quadruplexe 22AG, tampon cacodylate de sodium 10mM, 100mM NaCl (**A**) ou 100mM KCl (**B**), ou 3 μ M 22AG déstructuré, tampon TrisHCl 10mM (**C**) avec concentrations croissantes de **25** (0 (noir), 0.5 (bleu foncé), 1.0 (bleu clair), 1.5 (vert clair), 2.0 (vert foncé), 2.5 (orange), 3.0équiv (rouge), 4.0équiv (rose) et 5.0équiv (violet) pour **A** et **B** et 0 (noir), 1.0 (bleu foncé), 2.0 (bleu clair) et 4.0 (vert clair) pour **C**).

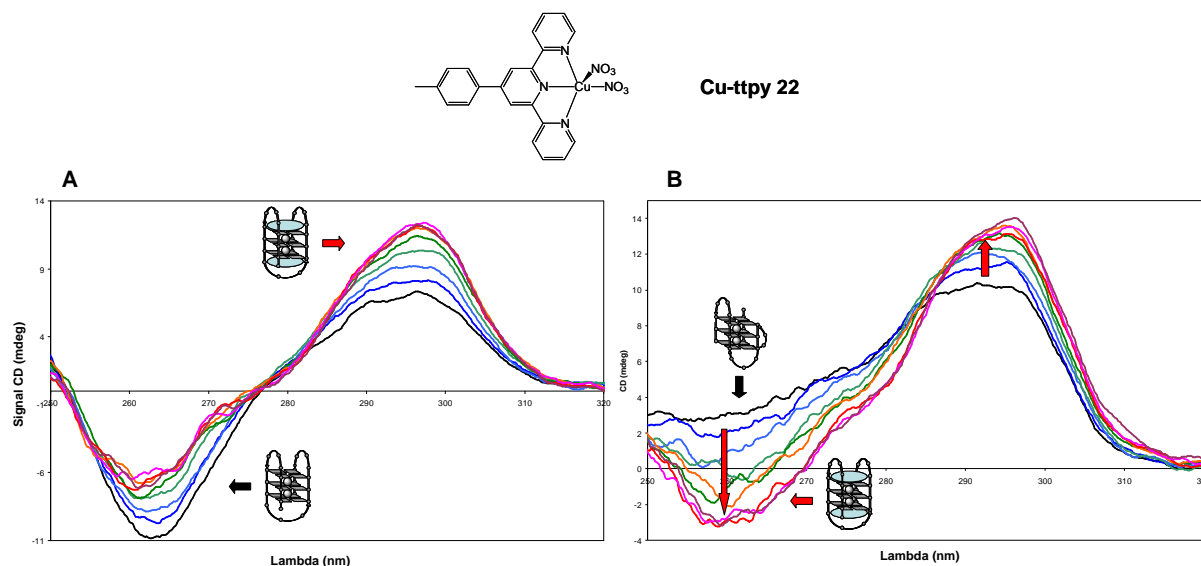


Figure 141. Etudes de dichroïsme circulaire avec le complexe **Cu-ttpy 22**. Conditions expérimentales : 3μM G-quadruplexe 22AG, tampon cacodylate de sodium 10mM, 100mM NaCl (A) ou 100mM KCl (B) avec concentrations croissantes de **22** (0 (noir), 0.5 (bleu foncé), 1.0 (bleu clair), 1.5 (vert clair), 2.0 (vert foncé), 2.5 (orange), 3.0équiv (rouge), 4.0équiv (rose) et 5.0équiv (violet)).

Nous avons également réalisé des études de dichroïsme circulaire (CD) sur le 22AG en présence des complexes métalliques les plus affins **Cu-ttpy 22** et **Pt-ttpy 25**. L'ajout de quantités croissantes de ligand **22** ou **25** ne modifie pas l'allure du signal CD de la structure antiparallèle obtenue en sodium (Figure 140A et Figure 141A respectivement). En revanche, malgré un léger décalage des courbes, le signal de la forme hybride en potassium est converti en un signal caractéristique d'une structure antiparallèle (Figure 140B et Figure 141B respectivement). Dans ce dernier cas, on observe donc un déplacement de l'équilibre existant entre les différentes formes G-quadruplexe vers un unique complexe ligand/G-quadruplexe présentant des signaux caractéristiques des structures antiparallèles, indiquant une interaction conséquente de ces ligands avec le G-quadruplexe.

Nous avons enfin examiné si le ligand **25** pouvait induire une structure G-quadruplexe. Partant de l'oligonucléotide non structuré (en absence de cations), des quantités croissantes de ligand sont ajoutées. Comme le montre la Figure 140C, l'interaction avec le ligand modifie peu le signal. Par ailleurs, le point isoelliptique observé habituellement à 272nm n'est pas formé ici. Le ligand **Pt-ttpy 25** n'est par conséquent pas capable de déplacer notablement l'équilibre entre la forme déstructurée et le G-quadruplexe.

Annexe H :

Analyse des produits de platination par migration sur gel d'électrophorèse après digestion enzymatique.

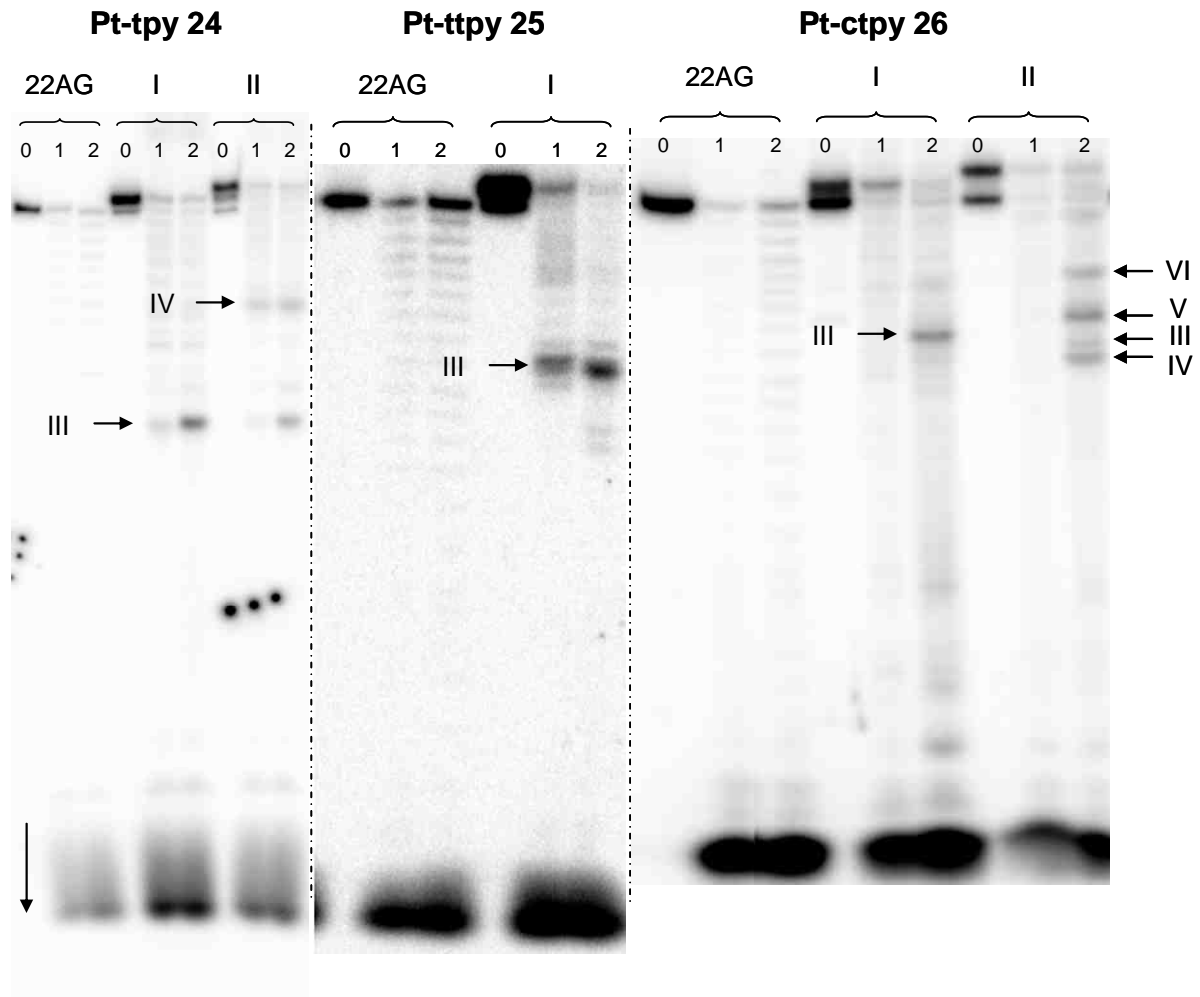


Figure 142. Gels d'électrophorèse en conditions dénaturantes de la digestion 3'-exonucléase de 22AG (contrôle) et des produits platinés I et II issus de la réaction de 22AG avec les complexes **24-26**. 0= pas d'enzyme, 1= 0.2u/μL, 2= 0.04u/μL. Les bandes III, IV, V, VI correspondent à des fragments digérés. Elles sont isolées du gel, les produits correspondant sont déplatinés par NaCN et analysés Figure 143.

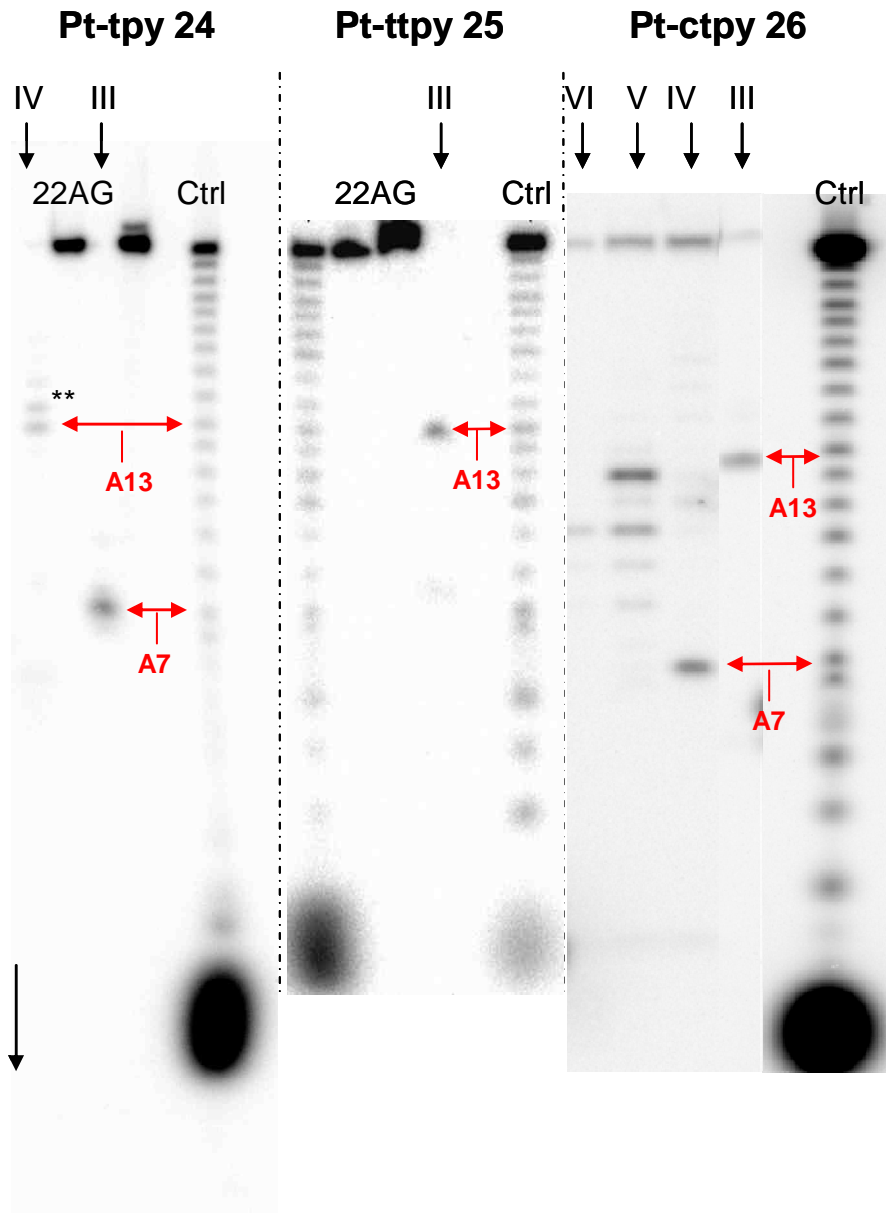
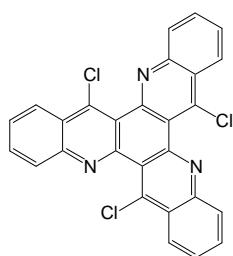


Figure 143. Gels d'électrophorèse en conditions dénaturantes des fragments de digestion III, IV, V et VI déplatinés. Les bandes 22AG correspondent à l'oligonucléotide non digéré, les bandes Ctrl proviennent de la digestion partielle du 22AG non platiné (0.001u/μL enzyme).

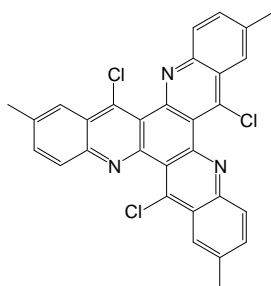
Annexe I :

Récapitulatif des composés synthétisés étudiés.

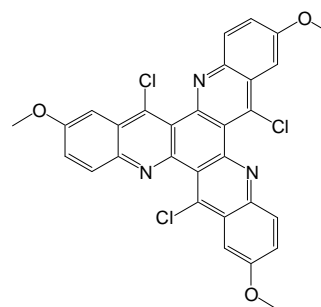
TrisKs :



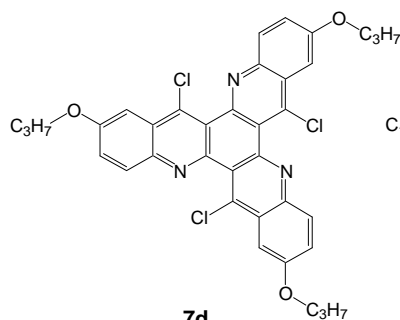
7a



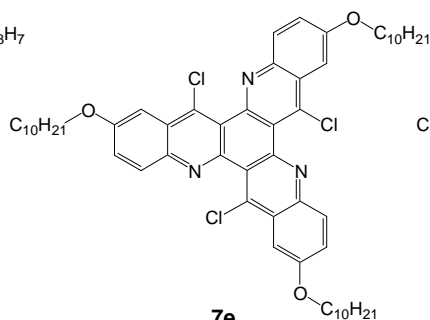
7b



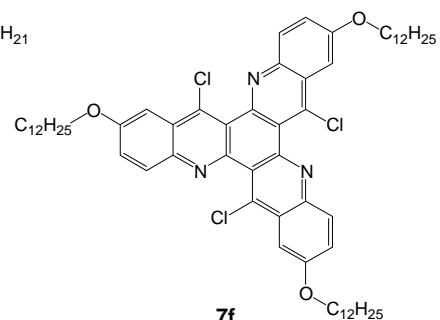
7c



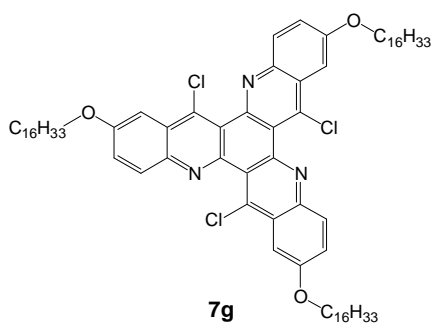
7d



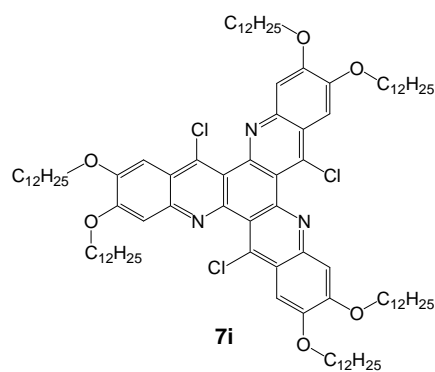
7e



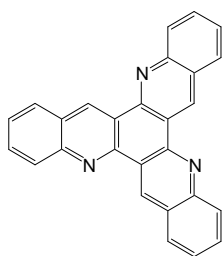
7f



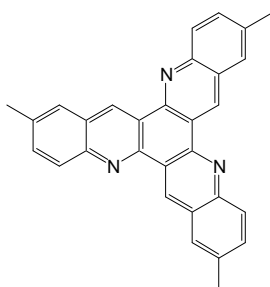
7g



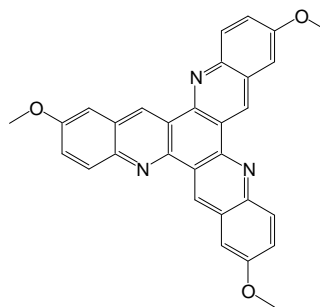
7i



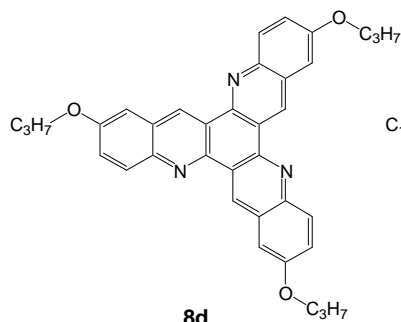
8a



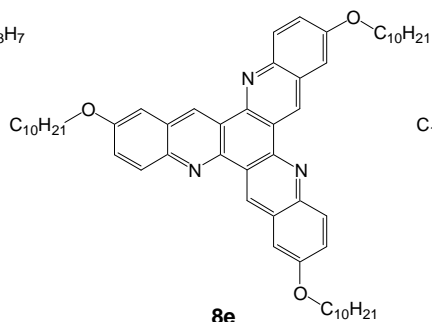
8b



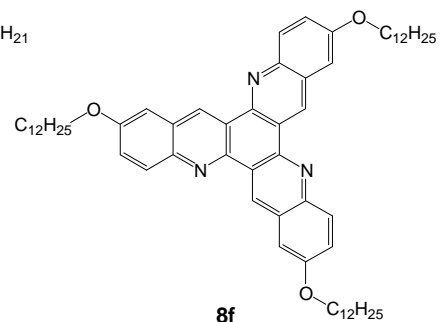
8c



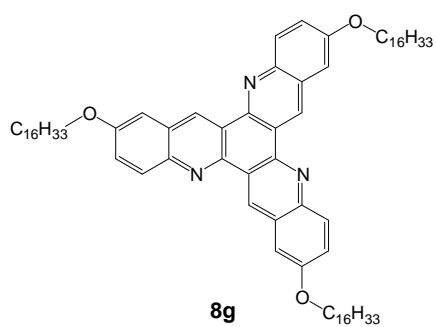
8d



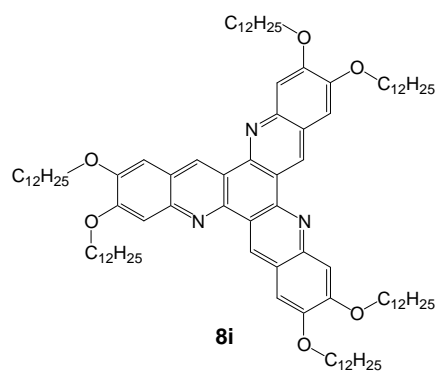
8e



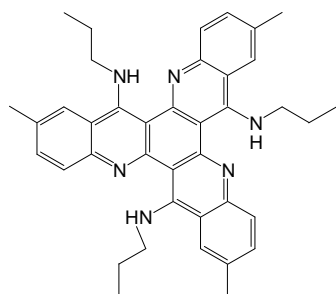
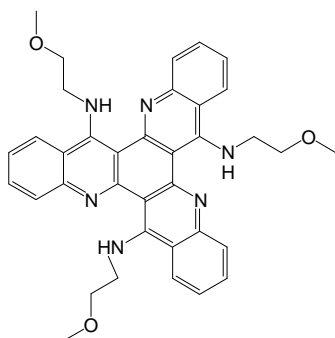
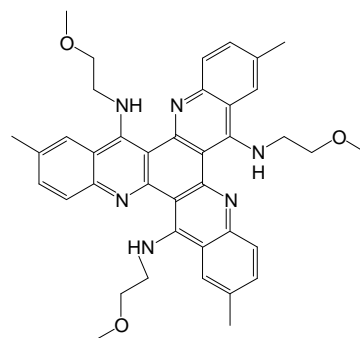
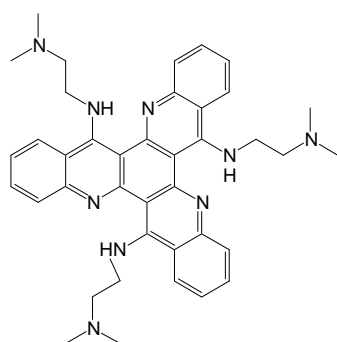
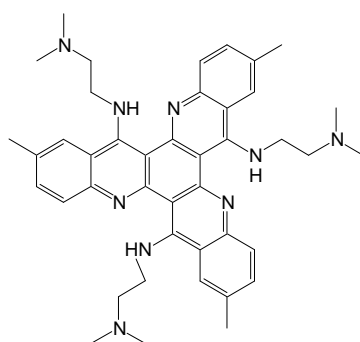
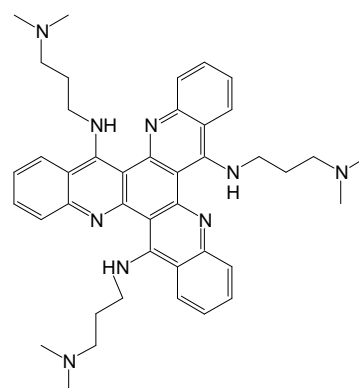
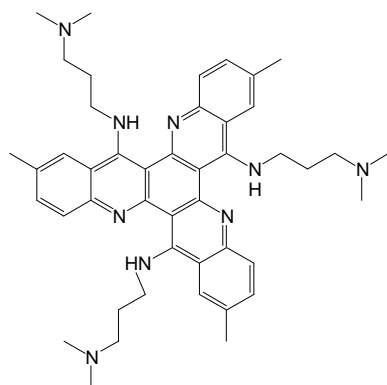
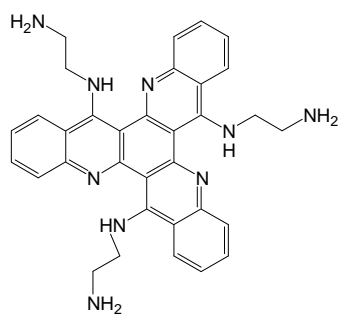
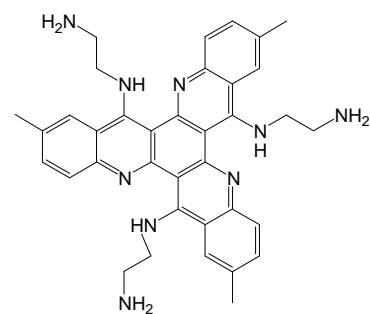
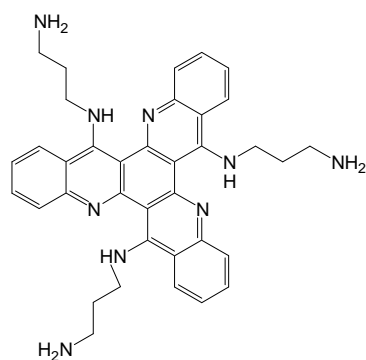
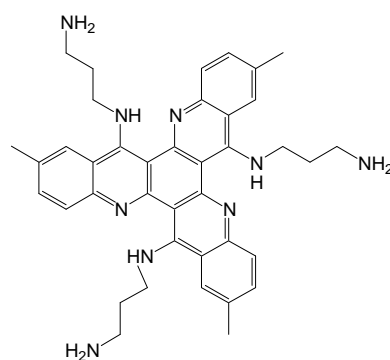
8f



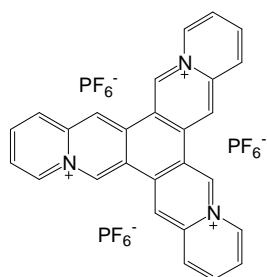
8g



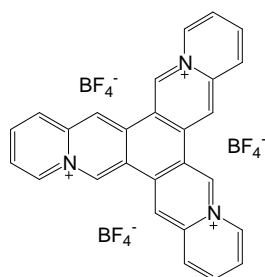
8i

Trisamino-TrisK :**9b****10a****10b****11a****11b****12a****12b****13a****13b****14a****14b**

Trisquinolizinium TrisQ :

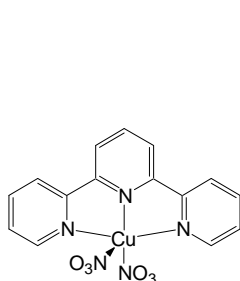


17a

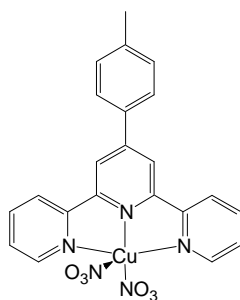


17b

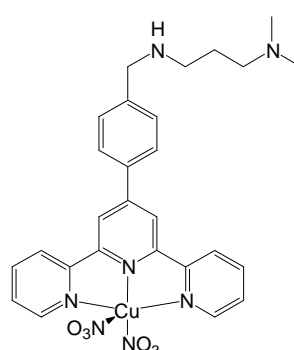
Complexes métalliques de terpyridines :



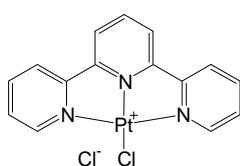
21



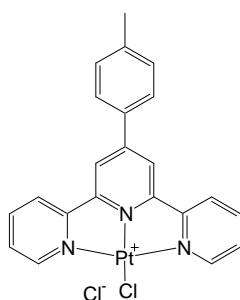
22



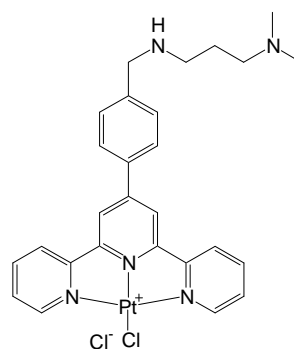
23



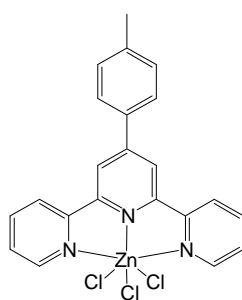
24



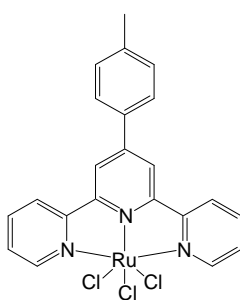
25



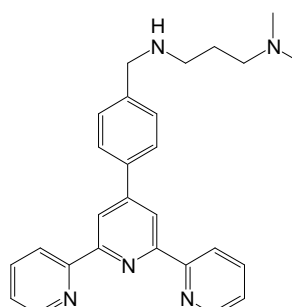
26



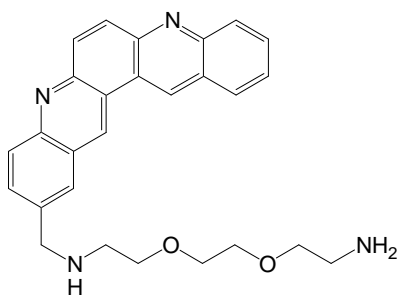
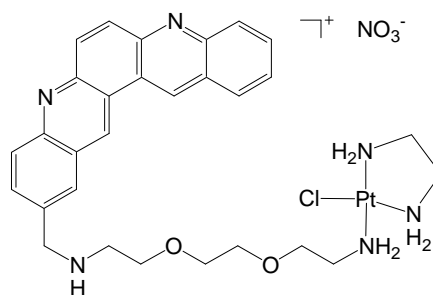
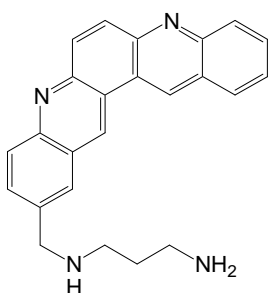
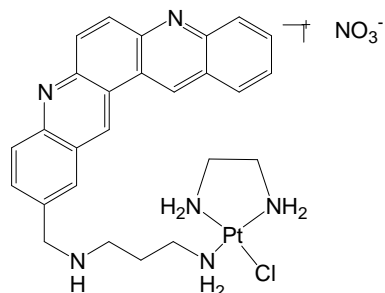
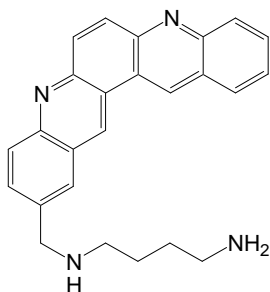
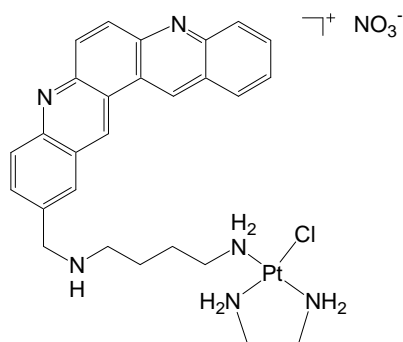
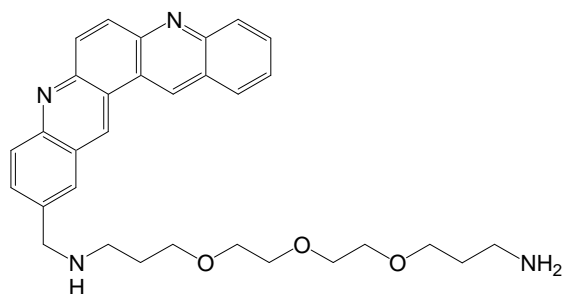
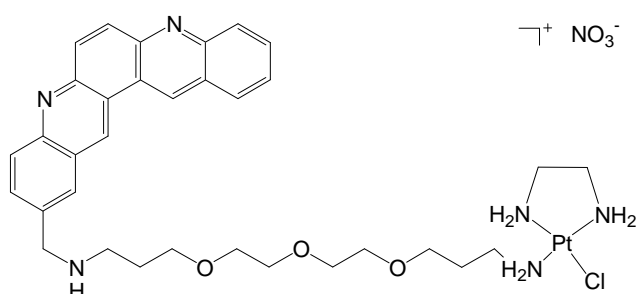
27



28



20

Hybrides quinacridine/platine :**MPQ-PEG-NH₂ 38****Pt-MPQ 40****MPQ-C3-NH₂ 46****Pt-MPQ-C3 49****MPQ-C4-NH₂ 47****Pt-MPQ-C4 50****MPQ-C13-NH₂ 48****Pt-MPQ-C13 51**

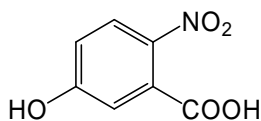
Experimental part

Chemistry

^1H , ^{13}C and ^{195}Pt NMR spectra were recorded on a Bruker Avance 300 using solvent residuals as internal references (for ^1H and ^{13}C NMR) and K_2PtCl_4 as external standard (for ^{195}Pt NMR, provided by the Laboratoire Hétéroéléments & Coordination, Ecole polytechnique, Palaiseau). The following abbreviations are used: singlet (s), doublet (d), doubled doublet (dd), triplet (t), doubled triplet (td), quintuplet (quint), sextuplet (sext) and multiplet (m). Mass spectrometry services were provided by the Service de spectrométrie de masse, Département de Chimie, Ecole Normale Supérieure, Paris and by the ICCMO, Orsay. Elemental analyses and high resolution mass spectrometry was provided by the I.C.S.N. (Institut de Chimie des Substances Naturelles, Gif-sur-Yvette). The following abbreviations are used: chemical ionisation (CI), electrospray (ES), time of flight (TOF), fast atom bombardment (FAB), matrix assisted desorption ionization (MALDI). Melting points (MP, uncorrected) were determined on a Electrothermal 9100 instrument. TLC analysis was carried out on silica gel (Merck 60F-254) with visualization at 254 and 366 nm. Preparative flash chromatography was carried out with Merck silica gel (Si 60, 40-63 μm). Reagents and chemicals were purchased from Sigma-Aldrich unless otherwise stated. Solvents were purchased from SDS. Dichloromethane (CH_2Cl_2 or DCM), chloroform (CHCl_3), methanol (MeOH) were distilled from calcium hydride, toluene and THF were distilled from sodium, DMF was distilled on MgSO_4 , pentanol on K_2CO_3 and acetic acid on acetic anhydride/ CrO_3 . Uv-Vis absorption spectra were recorded on a Uvikon XL spectrophotometer.

Abbreviations:

ACN: acetonitrile
DCM: dichloromethane
DCE: dichloroethane
DMF: dimethylformamide
DMSO: dimethylsulfoxide
Et₂O: diethylether
THF: tetrahydrofuran
Ac-: acetyl-
Me-: methyl-
en: ethylenediamine
RT: room temperature
NMR: nuclear magnetic resonance
s: singlet
d: doublet
t: triplet
q: quadruplet
m: multiplet
J: coupling constant
MS: mass spectrum
HRMS: high resolution mass spectrum
m/z: ratio mass on charge
CI: chemical ionisation
APCI: atmospheric pressure chemical ionisation
ES: electrospray
MALDI: matrix assisted desorption ionisation
TOF: time-of-flight
FAB: Fast Atom Bombardment
MP: melting point

5-hydroxy-2-nitro-benzoic acid:

A solution of 5-chloro-2-nitro-benzoic acid (25.28g, 125.0mmol, 1.0equiv.) in NaOH (320mL, 1.0mol, 8.0equiv., 15% solution) is heated to reflux under nitrogen for 3 days. After cooling to RT, the solution is acidified to pH 1 with HCl 12N. The obtained precipitate is extracted with Et₂O (3x100mL), the combined organic layers are washed with brine, dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford 5-hydroxy-2-nitro-benzoic acid (22.80g, 99% chemical yield) as a pale yellow solid.

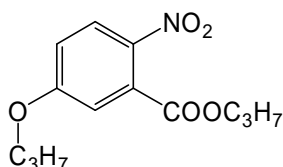
Rf (DCM/MeOH 9/1): 0.2

¹H-NMR (300MHz, acetone-d₆): δ (ppm). 10.4 (s broad, 1H), 8.01 (dd, J=8.4Hz and 0.9Hz, 1H), 7.13 (m, 2H), 3.1 (s broad, 1H)

¹³C-NMR (75MHz, acetone-d₆): δ (ppm). 166.2, 162.0, 139.6, 131.9, 126.8, 117.1, 115.5

MS (ES⁻): *m/z* 182.2 ([M-H]⁻, 100%), 138.1 ([M-NO₂], 69%)

MP 162°C

propyl 5-propyloxy-2-nitro-benzoate **1d**:

To a solution of 5-hydroxy-2-nitro-benzoic acid (5.12g, 28.0mmol, 1.0equiv.) in DMF (50 mL), is added K₂CO₃ (8.90g, 64.3mmol, 2.3equiv.) and C₃H₇Br (5.4mL, 58.7mmol, 2.1equiv.). The mixture is stirred at 75°C under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, water is added (60mL) and the solution is extracted with Et₂O (3x100mL). The combined organic layers are dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is filtered on silica gel (eluent DCM) to afford propyl 5-propyloxy-2-nitro-benzoate **1d** (6.92g, 93% chemical yield) as a pale yellow oil.

Rf (DCM): 0.5

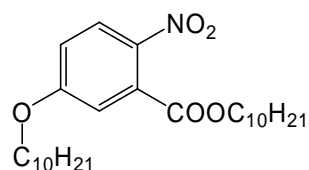
¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.93 (d, J=8.7Hz, 1H), 6.92 (m, 2H), 4.21 (t, J=6.6Hz, 2H), 3.93 (t, J=6.6Hz, 2H), 1.71 (m, 4H), 0.96 (t, J=6.6Hz, 3H), 0.89 (t, J=6.6Hz, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 166.5, 163.4, 140.0, 131.8, 126.9, 116.1, 115.0, 70.9, 68.4, 22.6, 22.0, 10.65, 10.6

MS (ES⁺): *m/z* 290.0 ([M+Na]⁺, 100%)

MS (ES⁻): *m/z* 267.1 ([M-H]⁻, 100%)

decyl 5-decyloxy-2-nitro-benzoate **1e**:



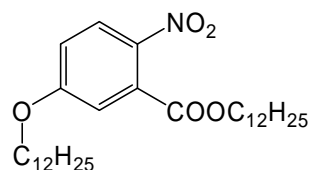
To a solution of 5-hydroxy-2-nitro-benzoic acid (5.00g, 27.3mmol, 1.0equiv.) in DMF (50mL), is added K₂CO₃ (8.7g, 62.8mmol, 2.3equiv.) and C₁₀H₂₁Br (11.9mL, 57.3mmol, 2.1equiv.). The mixture is stirred at 75°C under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, water is added (60mL) and the solution is extracted with Et₂O (3x100mL). The combined organic layers are dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is filtered on silica gel (eluent DCM) to afford decyl 5-decyloxy-2-nitro-benzoate **1e** (12.50g, 99% chemical yield) as a pale yellow oil.

Rf (DCM): 0.8

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.93 (d, J=9.0Hz, 1H), 6.91 (m, 2H), 4.24 (t, J=6.9Hz, 2H), 3.96 (t, J=6.9Hz, 2H), 1.69 (m, 4H), 1.28 (m, 28H), 0.79 (t, J=6.6Hz, 6H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 166.5, 163.4, 140.1, 131.9, 126.9, 116.1, 114.95, 69.5, 67.0, 32.2 (2C), 29.9 (2C), 29.7 (2C), 29.63 (2C), 29.56 (2C), 29.2, 28.6, 26.21, 26.19, 23.0 (2C), 14.4 (2C)

MS (ES⁺): *m/z* 486.2 ([M+Na]⁺, 100%)

dodecyl 5-dodecyloxy-2-nitro-benzoate **1f**:

To a solution of 5-hydroxy-2-nitro-benzoic acid (5.36g, 29.3mmol, 1.0equiv.) in DMF (50mL), is added K_2CO_3 (9.30g, 67.3mmol, 2.3equiv.) and $C_{12}H_{25}Br$ (15.6mL, 64.4mmol, 2.2equiv.). The mixture is stirred at 75°C under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, water is added (40mL) and the solution is extracted with Et_2O (2x100mL). The organic layer is dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is taken up in a mixture ACN/MeOH (98/2) and the resulting precipitate is filtered to afford dodecyl 5-dodecyloxy-2-nitro-benzoate **1f** (14.90g, 98% chemical yield) as a white solid.

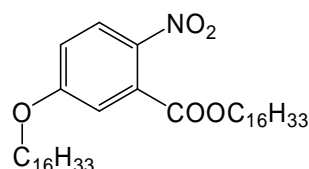
Rf (DCM/MeOH 9/1): 0.86

1H -NMR (300MHz, acetone- d_6): δ (ppm). 8.10 (d, $J=9.0Hz$, 1H), 7.26 (dd, $J=9.0Hz$ and $2.7Hz$, 1H), 7.206 (d, $J=2.7Hz$, 1H), 4.31 (t, $J=6.6Hz$, 2H), 4.22 (t, $J=6.6Hz$, 2H), 1.85 (quint, $J=6.6Hz$, 2H), 1.74 (quint, $J=6.6Hz$, 2H), 1.41 (m, 36H), 0.89 (t, $J=6.6Hz$, 6H)

^{13}C -NMR (75MHz, acetone- d_6): δ (ppm). 165.4, 163.1, 140.0, 131.4, 126.7, 116.2, 114.8, 69.1, 66.0, 31.7 (2C), 29.4, 29.35, 29.1, 29.0, 25.7, 25.65, 22.4 (2C), 13.5 (2C), (6C under solvent signals)

MS (CI^+): m/z 537 ($[M+NH_3+H]^+$, 100%), 490 (43.8%)

MP 49-50°C

hexadecyl 5-hexadecyloxy-2-nitro-benzoate **1g**

To a solution of 5-hydroxy-2-nitro-benzoic acid (5.05g, 27.6mmol, 1.0equiv.) in DMF (50mL), is added K_2CO_3 (8.80g, 63.4mmol, 2.3equiv.) and $C_{16}H_{33}Br$ (17.7mL, 58mmol, 2.1equiv.). The mixture is stirred at 75°C under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, water is added (60mL) and the solution is extracted with Et_2O (3x100mL). The organic layer is

dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is taken up in Et₂O and the resulting precipitate is filtered to afford hexadecyl 5-hexadecyloxy-2-nitrobenzoate **1f** (14.49g, 83% chemical yield) as a white solid.

R_f (DCM): 0.84

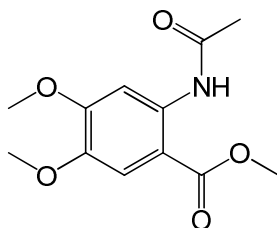
¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.93 (d, J=9.0Hz, 1H), 6.92 (m, 2H), 4.23 (t, J=6.6Hz, 2H), 3.96 (t, J=6.6Hz, 2H), 1.68 (m, 4H), 1.27 (m, 52H), 0.79 (t, J=6.6Hz, 6H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 166.8, 163.5, 140.25, 132.1, 127.1, 116.35, 115.0, 69.7, 67.2, 32.4 (2C), 30.2 (6C), 30.18 (6C), 30.1 (2C), 30.05, 30.0, 29.9 (2C), 29.8, 29.7, 29.4, 28.8, 26.36, 26.33, 23.2 (2C), 14.6 (2C)

MS (TOF APCI+) 654.5 ([M+Na]⁺, 7.7%), 494.6 (79.7%), 390.3 ([M-C₁₆H₃₃O], 100%)

MP 62-63°C

methyl 2-acetamido-4,5-dimethoxy benzoate



To a solution of methyl 2-amino-4,5-dimethoxy benzoate (5.07g, 24.0mmol, 1.0equiv.) and pyridine (2.0mL) in THF (80mL) at 0°C, is added acetyl chloride (3.4mL, 48.0mmol, 2.0equiv.) dropwise. At the end of the addition, the mixture is stirred at RT under nitrogen for 3hrs. The solution is poured into water (100mL) and extracted with ethyl acetate (3x100mL). The organic phase is washed with a 1M solution of HCl (50mL), then with a saturated NaHCO₃ solution (50mL) and with brine (50mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford methyl 2-acetamido-4,5-dimethoxy benzoate (5.82g, 95.7% chemical yield) as a pale violet solid.

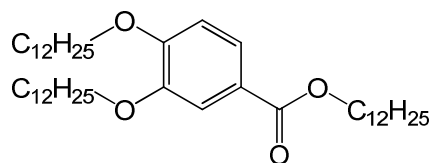
R_f (DCM): 0.77

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 11.05 (s, 1H), 8.38 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 3.878 (s, 3H), 3.826 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 2.15 (s, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 168.9, 168.3, 153.9, 143.6, 137.8, 111.8, 106.1, 103.1, 56.05, 55.97, 52.0, 25.5

MS (ES+): m/z 276.2 ([M+Na]⁺, 100%)

MP 157°C

dodecyl 3,4-didodecyloxy-benzoate

To a solution of 3,4-dihydroxy-benzoic acid (7.08g, 46.0mmol, 1.0equiv.) in DMF (85mL), is added K_2CO_3 (22.3g, 161.0mmol, 3.5equiv.) and $C_{12}H_{25}Br$ (35.3mL, 147.0mmol, 3.2equiv.). The mixture is stirred at 75°C under nitrogen for 36hrs. After cooling to RT, water is added (100mL) and the solution is extracted with DCM (4x300mL). The combined organic layers are dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is taken up in MeOH, the resulting precipitate is filtered, washed with MeOH and dried to afford dodecyl 3,4-didodecyloxy-benzoate (19.69g, 65% chemical yield) as a white solid.

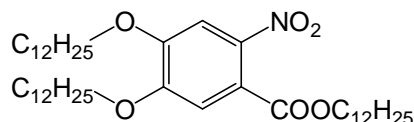
Rf (DCM): 0.74

1H -NMR (300MHz, $CDCl_3$): δ (ppm). 7.54 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.44 (s, 1H), 6.77 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 4.18 (t, $J=6.6$ Hz, 2H), 3.95 (t, $J=6.6$ Hz, 4H), 1.71 (m, 6H), 1.26 (m, 54H), 0.79 (t, $J=6.6$ Hz, 9H)

^{13}C -NMR (75MHz, $CDCl_3$): δ (ppm). 166.7, 153.2, 148.6, 123.5, 122.9, 114.4, 112.0, 69.4, 69.1, 65.0, 32.1 (3C), 29.83 (2C), 29.8 (4C), 29.78 (4C), 29.75 (2C), 29.70, 29.55, 29.50 (3C), 29.44, 29.3, 29.2, 28.9, 26.2, 26.15, 26.1, 22.8 (3C), 14.2 (3C)

MS (TOF APCI+): m/z 659.6 ($[M+H]^+$, 100%)

MP 69-70°C

dodecyl 2-nitro-4,5-didodecyloxy-benzoate **1i**

To a suspension of 2-nitro-4,5-dimethoxy-benzoic acid (9.00g, 39.6mmol, 1.0equiv.) in anhydrous DCM (450mL) at -10°C, a solution of neat BBr_3 (21.0mL, 238mmol, 6.0equiv.) in

anhydrous DCM (200mL, 1M solution approximately) is added dropwise. After the addition, the reaction mixture is allowed to reach RT and further stirred during 1h30. The solution is then poured on ice (600mL), the mixture is stirred for 15min and extracted with ethyl acetate (6x700mL). The combined organic layers are dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford 2-nitro-4,5-dihydroxy-benzoic acid (8.20g) as a black powder which is directly used without further purification.

To a solution of 2-nitro-4,5-dihydroxy-benzoic acid (7.09g, 35.6mmol, 1equiv.) in DMF (70mL), is added K₂CO₃ (17.30g, 125mmol, 3.5equiv.) and C₁₂H₂₅Br (31mL, 128.3mmol, 3.6equiv.). The mixture is stirred at 75°C under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, water is added (100mL) and the solution is extracted with Et₂O (2x200mL) and DCM (4x300mL). The combined organic layers are dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is filtered on silica gel (eluent DCM); the desired fractions are combined and concentrated under reduced pressure. The residue is taken up in MeOH; the resulting precipitate is filtered and washed with MeOH to afford dodecyl 2-nitro-4,5-didodecyloxy-benzoate **1i** (5.83g, 24% chemical yield over 2 steps) as a pale violet powder.

Rf (DCM): 0.9

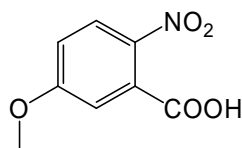
¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.41 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 4.29 (t, J=9.0Hz, 2H), 4.06 (pseudo q, J_{app}=9Hz, 4H), 1.85 (quint, J=6.0Hz, 4H), 1.70 (quint, J=6.0Hz, 2H), 1.46 (m, 4H), 1.26 (m, 50H), 0.88 (t, J=9.0Hz, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 166.3, 152.6, 150.3, 141.1, 121.9, 112.1, 108.3, 69.8 (2C), 66.7, 32.1 (3C), 29.83 (2C), 29.80 (4C), 29.74 (4C), 29.72 (4C), 29.65, 29.5 (2C), 29.43, 29.36, 29.0, 28.95, 28.4, 26.0 (2C), 22.8 (3C), 14.3 (3C)

MS(TOF APCI+): m/z 726.6 ([M+Na]⁺, 13.7%), 518.4 ([M-C₁₂H₂₅O], 100%)

MP 70-71°C

5-methoxy-2-nitro-benzoic acid **2c**



To a solution of KOH (2.80g, 50mmol, 5.0equiv.) in MeOH (18mL), is added 5-chloro-2-nitro-benzoic acid (2.01g, 10mmol, 1.0equiv.). The obtained white suspension is heated to reflux under nitrogen for 28hrs. The resulting yellow solution is cooled to RT and

concentrated under reduced pressure. The residue is dissolved in H₂O (18mL) and the solution is acidified with HCl 12N (3.6mL). The obtained precipitate is extracted with ethyl acetate (3x10mL), the combined organic phases are washed with brine (15mL), dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to afford 5-methoxy-2-nitro-benzoic acid **2c** as a white solid (1.95g, 99% chemical yield).

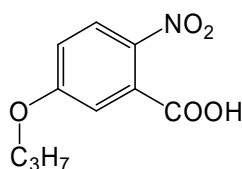
¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 8.074 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.22 (d, J= 2.7Hz, 1H), 7.11 (dd, J=9.0Hz and 2.7Hz, 1H), 3.984 (s, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 169.8, 163.3, 140.4, 129.8, 126.7, 116.4, 114.5, 56.3

MS (CI⁺): *m/z* 215 ([M+NH₃+H]⁺, 100%), 232 ([M+2 NH₃+H]⁺, 51.9%)

MP 126-130°C

5-propyloxy-2-nitro-benzoic acid **2d**



Propyl 5-propyloxy-2-nitro-benzoate **1d** (6.67g, 24.9mmol, 1.0equiv.) is dissolved in acetone (370mL) and a 5% aqueous solution of NaOH is added (130mL, 150mmol, 6.0equiv.). The solution is stirred at reflux under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, a mixture of DCM/H₂O (1/1, 500mL) is added. After phases' separation, the aqueous phase is acidified to pH 1 by addition of a solution of HCl (1M) and extracted with Et₂O (3x100ml). The combined organic layers are dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford 5-propyloxy-2-nitro-benzoic acid **2d** (5.18g, 92% chemical yield) as a white solid.

R_f(DCM): 0.24

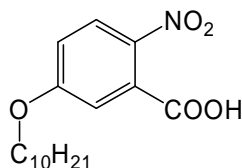
¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.91 (d, J=9Hz, 1H), 7.04 (d, J=2.7Hz, 1H), 6.92 (dd, J=2.7Hz and 9Hz, 1H), 3.94 (t, J=6.6Hz, 2H), 1.76 (sext, J=6.6Hz, 2H), 0.96 (t, J=7.5Hz, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 170.1, 163.4, 140.3, 127.1, 124.6, 116.9, 115.1, 71.2, 22.7, 10.8

MS (ES⁺): *m/z* 248.0 ([M+Na]⁺, 100%)

MS (ES⁻): *m/z* 224.1 ([M-H]⁻, 100%)

MP 128-130°C

5-decyloxy-2-nitro-benzoic acid 2e

Decyl 5-decyloxy-2-nitro-benzoate **1e** (12.50g, 27.0mmol, 1.0equiv.) is suspended in acetone (410mL) and a 5% aqueous solution of NaOH is added (150mL, 162mmol, 6.0equiv.). The solution is stirred at reflux under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, a mixture of DCM/H₂O (1/1, 500mL) is added. After phases' separation, the aqueous phase is acidified to pH 1 by addition of a solution of HCl (1M) and extracted with Et₂O (4x100ml). The organic layer is dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford 5-decyloxy-2-nitro-benzoic acid **2e** (7.0g, 80% chemical yield) as a brown paste.

Rf(DCM): 0.04

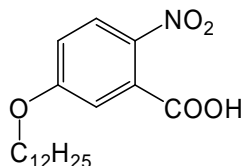
¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.67 (d, J=9.0Hz, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.61 (d, J=9.0Hz, 1H), 3.78 (t, J=6.6Hz, 2H), 1.55 (m, 2H), 1.67 (m, 14H), 0.796 (t, J=6.6Hz, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 168.5, 164.1, 139.7, 131.8, 126.4, 115.9, 114.5, 69.1, 31.8, 29.5 (2C), 29.3, 29.2, 28.8, 25.8, 22.6, 14.0

MS (ES⁺): *m/z* 346.1 ([M+Na]⁺, 100%), 368.1 ([M-H+2Na]⁺, 43%)

MS (ES⁺): *m/z* 322.1 ([M-H]⁺, 100%)

MP 85-87°C

5-dodecyloxy-2-nitro-benzoic acid 2f

Dodecyl 5-dodecyloxy-2-nitro-benzoate **1f** (14.90g, 28.7mmol, 1.0equiv.) is suspended in acetone (870mL) and a 5% aqueous solution of NaOH is added (310mL, 345mmol, 12.0equiv.). The solution is stirred at reflux under nitrogen for 20hrs. After cooling to RT, a mixture of DCM/H₂O (1/1, 1.6L) is added. After elimination of the organic phase, the aqueous phase is acidified to pH 1 by addition of a solution of HCl (1M) and extracted with

Et₂O (3x500ml). The organic layer is dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford 5-dodecyloxy-2-nitro-benzoic acid **2f** (6.95g, 69% chemical yield) as a white solid.

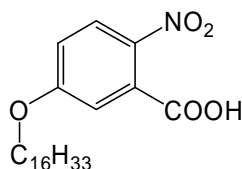
¹H-NMR (300MHz, acetone-d₆): δ (ppm). 8.04 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.2 (m, 2H), 4.19 (t, J=6.6Hz, 2H), 1.83 (quint, J=6.6Hz, 2H), 1.39 (m, 18H), 0.88 (t, J=6.6Hz, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, acetone-d₆): δ (ppm). 166.1, 162.9, 140.3, 131.6, 126.5, 116.0, 114.8, 69.1, 31.8, 29.5, 29.45, 29.23, 29.18, 28.8, 25.7, 22.5, 13.5, (2C under solvent signals)

MS (CI⁺): *m/z* 369 ([M+NH₃+H]⁺, 100%), 322 ([M-NO₂+NH₂], 64.3%)

MP 68-70°C

5-hexadecyloxy-2-nitro-benzoic acid **2g**



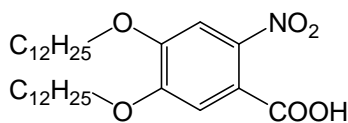
Hexadecyl 5-hexadecyloxy-2-nitro-benzoate **1g** (11.79g, 18.7mmol, 1.0equiv.) is suspended in acetone (275mL) and a 5% aqueous solution of NaOH is added (100mL, 112mmol, 6.0equiv.). The solution is stirred at reflux under nitrogen for 20hrs. After cooling to RT, a mixture of DCM/H₂O (1/1, 450mL) is added. The biphasic mixture is filtered; the white solid collected is washed with DCM and Et₂O and dried, to afford 5-hexadecyloxy-2-nitro-benzoic acid **2g** (6.20g, 82% chemical yield) as a white solid.

¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ (ppm). 7.54 (d, J=8.4Hz, 1H), 6.76 (s, 1H), 6.71 (d, J=8.4Hz, 1H), 3.92 (t, J=6.3Hz, 2H), 1.60 (m, 2H), 1.21 (m, 26H), 0.75 (t, J=6.3Hz, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CD₃COOD): δ (ppm). 163.5, 139.7, 126.9 (2C), 115.9, 114.4, 69.4, 32.1, 29.9 (6C), 29.85, 29.82, 29.6, 29.59, 29.1, 26.1, 22.8, 13.75, (1C under solvent signals)

MS (ES⁻): *m/z* 406.1 ([M-H]⁻, 100%)

MP 115-118°C

2-nitro-4,5-didodecyloxy-benzoic acid 2i

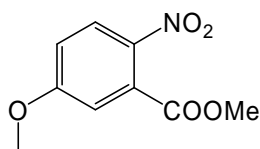
Dodecyl 2-nitro-4,5-didodecyloxy-benzoate **1i** (5.63g, 8mmol, 1.0equiv.) is suspended in acetone (120mL) and a 5% aqueous solution of NaOH is added (43mL, 96mmol, 12.0equiv.). The solution is stirred at reflux under nitrogen for 20hrs. After cooling to RT, H₂O (90mL) is added. The resulting precipitate is filtered and dried under vacuum to afford 2-nitro-4,5-didodecyloxy-benzoic acid **2i** (4.28g, quantitative chemical yield) as a yellow brown solid.

¹H-NMR (300MHz, CD₃COOD): δ (ppm). 7.45 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 4.14 (m, 4H), 1.88 (m, 4H), 1.56 (m, 6H), 1.32 (m, 30H), 0.92 (m, 6H)

¹³C-NMR (75MHz, CD₃COOD): δ (ppm). 177.2, 152.4, 151.1, 142.2, 112.6 (2C), 108.4, 69.7, 62.4, 32.2 (2C), 29.98, 29.93 (2C), 29.92 (2C), 29.89 (2C), 29.85, 29.64 (2C), 29.62 (2C), 29.2, 29.15, 26.2, 25.9, 22.8 (2C), 13.7 (2C)

MS (ES⁻): m/z 534.2 ([M-H]⁻, 100%)

MP 269-273°C

methyl-5-methoxy-2-nitro-benzoate 3c

To a solution of 5-methoxy-2-nitro-benzoic acid **2c** (12.48g, 63.3mmol, 1.0equiv.) in MeOH (800mL) is slowly added concentrated H₂SO₄ (58mL, 633mmol, 10.0equiv.). The solution is heated to reflux under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, the volume of the solution is reduced to ~100mL and a mixture of DCM-H₂O (600mL, 2/1) is added. The organic layer is washed with H₂O (100mL), dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue is filtered on silica gel (eluent DCM) and concentrated under reduced pressure to afford methyl-5-methoxy-2-nitro-benzoate **3c** (12.18g, 91% chemical yield) as yellow oil.

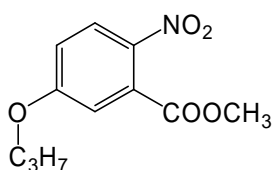
Rf (DCM/MeOH 95/5): 0.89

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 8.08 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.07 (m, 2H), 3.974 (s, 3H), 3.955 (s, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 166.6, 163.4, 140.0, 131.2, 126.7, 115.8, 114.1, 56.2, 53.4

MS (CI⁺): *m/z* 229 ([M+NH₃+H]⁺, 59%), 182 ([M-NO₂+NH₃], 100%)

methyl 5-propyloxy-2-nitro-benzoate **3d**



To a solution of 5-propyloxy-2-nitro-benzoic acid **2d** (5.18g, 23mmol, 1.0equiv.) in MeOH (350mL) is slowly added concentrated H₂SO₄ (23mL). The solution is heated to reflux under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, the volume of the solution is reduced to ~50mL and a mixture of DCM/H₂O (320mL, 2/1) is added. The organic layer is washed with H₂O (2x50mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford methyl 5-propyloxy-2-nitro-benzoate **3d** (5.19g, 94% chemical yield) as a brown oil.

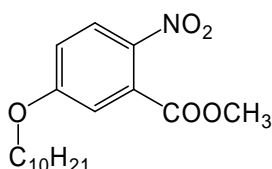
Rf(DCM): 0.54

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.89 (d, J=9Hz, 1H), 6.89 (m, 2H), 3.9 (t, J=6.6Hz, 2H), 3.8 (s, 3H), 1.72 (sext, J=6.6Hz, 2H), 0.92 (t, J=7.5Hz, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 167.0, 163.5, 140.0, 131.5, 127.0, 116.4, 114.9, 71.0, 53.7, 22.6, 10.7

MS (ES⁺): *m/z* 262.0 ([M+Na]⁺, 100%), 210.1 ([C₁₁H₁₅NO₃+H]⁺, 60%)

methyl 5-decyloxy-2-nitro-benzoate **3e**



To a solution of 5-decyloxy-2-nitro-benzoic acid **2e** (7.0g, 21.6mmol, 1.0equiv.) in MeOH (390mL) is slowly added concentrated H₂SO₄ (25mL). The solution is heated to reflux under

nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, the volume of the solution is reduced to ~50mL and a mixture of DCM/H₂O (320mL, 2/1) is added. The organic layer is washed with H₂O (2x50mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is filtered on silica gel (eluent DCM) to afford methyl 5-decyloxy-2-nitro-benzoate **3e** (6.16g, 84% chemical yield) as a yellow oil.

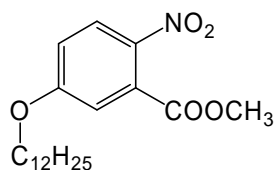
Rf(DCM): 0.67

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.91 (d, J=9.0Hz, 1H), 6.9 (m, 2H), 3.95 (t, J=6.6Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 1.70 (quint, J=6.6Hz, 2H), 1.26 (m, 14H), 0.77 (t, J=6.6Hz, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 166.8, 163.4, 139.9, 131.5, 126.9, 116.2, 114.9, 69.6, 53.5, 32.2, 29.85 (2C), 29.63, 29.60, 29.19, 26.2, 23.0, 14.4

MS (ES⁺): *m/z* 360.1 ([M+Na]⁺, 100%)

methyl 5-dodecyloxy-2-nitro-benzoate **3f**

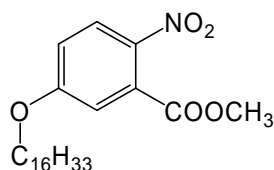


To a solution of 5-dodecyloxy-2-nitro-benzoic acid **2f** (6.95g, 19.8mmol, 1.0equiv.) in MeOH (280mL) is slowly added concentrated H₂SO₄ (18mL, 198mmol, 10.0equiv.). The solution is heated to reflux under nitrogen for 24hrs. After cooling to RT, the volume of the solution is reduced to ~40mL and a mixture of DCM/H₂O (270mL, 2/1) is added. The organic layer is washed with H₂O (2x50mL), dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford methyl 5-dodecyloxy-2-nitro-benzoate **3f** (6.97g, 96 % chemical yield) as a brown oil.

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 8.06 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.04 (m, 2H), 4.08 (t, J=6.6Hz, 2H), 3.97 (s, 3H), 1.85 (quint, J=6.6Hz, 2H), 1.39 (m, 18H), 0.91 (t, J=6.6Hz, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 166.75, 163.1, 139.7, 131.3, 126.7, 116.1, 114.5, 69.3, 53.4, 31.9, 29.65 (2C), 29.57, 29.53, 29.35, 29.3, 28.9, 25.9, 22.7, 14.1

MS (CI⁺): *m/z* 383 ([M+NH₃+H]⁺, 79.8%), 336 ([M-NO₂+NH₂], 100%)

methyl 5-hexadecyloxy-2-nitro-benzoate **3g**

To a solution of 5-hexadecyloxy-2-nitro-benzoic acid **2g** (6.0g, 14.7mmol, 1.0equiv.) in MeOH (210mL) is slowly added concentrated H₂SO₄ (15mL). The solution is heated to reflux under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, the volume of the solution is reduced to ~100mL and a mixture of DCM/H₂O (330mL, 2/1) is added. The organic layer is dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford methyl 5-hexadecyloxy-2-nitro-benzoate **3g** (4.70g, 76 % chemical yield) as a brown oily solid.

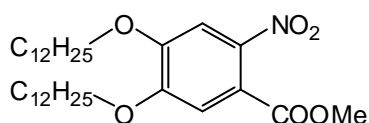
Rf(DCM):0.62

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.95 (d, J=9.0Hz, 1H), 6.92 (m, 2H), 3.97 (t, J=6.6Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 1.73 (quint, J=6.6Hz, 2H), 1.27 (m, 26H), 0.797 (t, J=6.6Hz, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 165.7, 162.1, 138.6, 130.2, 125.7, 115.0, 113.5, 68.2, 52.3, 30.9, 28.7 (3C), 28.66 (3C), 28.57, 28.52, 28.36, 28.26, 27.9, 24.8, 21.7, 13.1

MS (ESI): *m/z* 444.2 ([M+Na]⁺, 100%)

MP 42°C

methyl 2-nitro-4,5-didodecyloxy-benzoate **3i**

To a solution of 2-nitro-4,5-didodecyloxy-benzoic acid **2i** (4.28g, 8.0mmol, 1.0equiv.) in MeOH (125mL) is slowly added concentrated H₂SO₄ (8.5mL, 80mmol, 10.0equiv.). The solution is heated to reflux under nitrogen for 24hrs. After cooling to RT, the volume of the solution is reduced to ~40mL and a mixture of DCM/H₂O (120mL, 2/1) is added. The organic layer is washed with H₂O (2x50mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is filtered on silica gel (eluent DCM) to afford methyl 2-nitro-4,5-didodecyloxy-benzoate **3i** (3.73g, 85% chemical yield) as a yellow solid.

Rf(DCM): 0.55

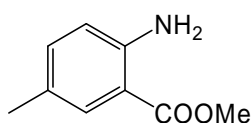
¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.43 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 4.06 (m, 4H), 3.9 (s, 3H), 1.85 (quint, J=6.0Hz, 4H), 1.3 (m, 36H), 0.88 (t, J=9.0Hz, 6H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 166.7, 152.7, 150.4, 141.0, 121.5, 112.0, 108.4, 69.8 (2C), 53.3, 32.1 (2C), 29.82 (2C), 29.80 (2C), 29.73 (2C), 29.71 (2C), 29.51 (2C), 29.44, 29.42, 29.0, 28.95, 26.0 (2C), 22.8 (2C), 14.3 (2C)

MS (ES⁺): m/z 572.2 ([M+Na]⁺, 100%)

MP 50°C

Methyl-5-methyl-2-amino-benzoate **4b**



To a solution of 5-methyl-2-amino-benzoic acid (5.07g, 33.1mmol, 1.0equiv.) in MeOH (470mL) is slowly added concentrated H₂SO₄ (30mL). The solution is heated to reflux under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, the volume of the solution is reduced to ~70mL and a mixture of DCM/NaHCO₃ 5% (420mL, 2/1) is added. After phases' separation, the aqueous layer is adjusted to pH 9 by addition of NaOH (1M) and further extracted with DCM (2x100mL). The combined organic layers are dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford methyl 5-methyl-2-amino-benzoate **4b** (4.82g, 88 % chemical yield) as a white solid.

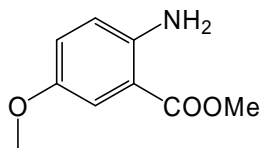
Rf(DCM/MeOH 9/1):0.9

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.7 (d, J=0.9Hz, 1H), 7.14 (dd, J=8.1Hz and 2.1Hz, 1H), 6.64 (d, J=8.1Hz, 1H), 3.905 (s, 3H), 2.27 (s, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 167.7, 147.4, 134.3, 129.9, 124.4, 115.9, 109.7, 50.5, 19.3

MS (ES⁺): m/z 166.1 ([M+H]⁺, 100%)

MP 63°C

methyl 2-amino-5-methoxy benzoate **4c**

To a solution of methyl-5-methoxy-2-nitro-benzoate **3c** (3.20g, 15.1mmol, 1.0equiv.) in a mixture of MeOH/Ethyl acetate (200mL, 1/1), is added Pd/C (0.93g, 30% wt). The suspension is submitted to three cycles vacuum/ nitrogen, then 2 cycles vacuum/H₂ and finally let under H₂ until the required volume is consumed. The reaction is stopped by three cycles vacuum/nitrogen, the suspension is filtered on celite and the filtrate is concentrated under reduced pressure to give methyl 2-amino-5-methoxy benzoate **4c** (2.55g, 93% chemical yield) as a brown oil.

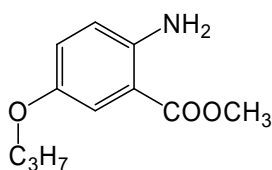
Rf (DCM/MeOH 95/5): 0.76

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.39 (d, J=3.0Hz, 1H), 6.99 (dd, J=8.7Hz and 3.0Hz, 1H), 6.67 (d, J=8.7Hz, 1H), 5.45 (s large, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.80 (s, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 168.3, 150.6, 145.1, 123.3, 118.3, 113.2, 110.8, 55.9, 51.6

MS (CI⁺): *m/z* 182 ([M+H]⁺, 100%)

MP <50°C

methyl 5-propyloxy-2-amino-benzoate **4d**

To a solution of methyl 5-propyloxy-2-nitro-benzoate **3d** (5.19g, 21.7mmol, 1.0equiv.) in a mixture of MeOH/Ethyl acetate (260mL, 1/1), is added Pd/C (1.5g, 30% wt). The suspension is submitted to three cycles vacuum/nitrogen, then 2 cycles vacuum/H₂ and finally let under H₂ until the required volume is consumed. The reaction is stopped by three cycles vacuum/nitrogen, the suspension is filtered on celite and the filtrate concentrated under

reduced pressure to give methyl 5-propyloxy-2-amino-benzoate **4d** (4.16g, 91.6% chemical yield) as a pale orange powder.

Rf (DCM): 0.2 (DCM/hexane 9/1): 0.12

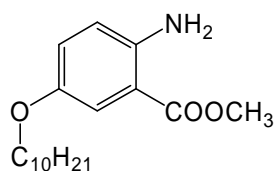
¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.27 (d, J=2.7Hz, 1H), 6.87 (dd, J=9.0Hz and 2.7Hz, 1H), 6.54 (d, J=9.0Hz, 1H), 5.3 (s broad, 2H), 3.77 (m, 5H), 1.68 (sext, J=7.2Hz, 2H), 0.93 (t, J=7.5Hz, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 168.7, 150.5, 145.2, 124.2, 118.7, 114.7, 111.2, 70.7, 52.0, 23.0, 10.9

MS (ES+): *m/z* 210.1 ([M+H]⁺, 100%)

MP 85-87°C

methyl 5-decyloxy-2-amino-benzoate **4e**



To a solution of methyl 5-decyloxy-2-nitro-benzoate **3e** (6.16, 18.2mmol, 1.0equiv.) in a mixture of MeOH/Ethyl acetate (200mL, 1/1), is added Pd/C (1.8g, 30% wt). The suspension is submitted to three cycles vacuum/ nitrogen, then 2 cycles vacuum/H₂ and finally let under H₂ until the required volume is consumed. The reaction is stopped by three cycles vacuum/nitrogen, the suspension is filtered on celite and the filtrate concentrated under reduced pressure to give methyl 5-decyloxy-2-amino-benzoate **4e** (5.12g, 91% chemical yield) as a white powder.

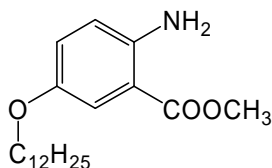
Rf (DCM): 0.15

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.27 (d, J=3.0Hz, 1H), 6.87 (dd, J=9.0Hz and 3.0Hz, 1H), 6.55 (d, J=9.0Hz, 1H), 4.85 (s broad, 2H), 3.81 (m, 5H), 1.66 (quint, J=6.6Hz, 2H), 1.27 (m, 14H), 0.80 (t, J=6.6Hz, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 168.5, 151.2, 143.5, 123.9, 119.4, 114.9, 112.3, 69.2, 52.1, 32.3, 30.0, 29.95, 29.80, 29.73, 29.71, 26.4, 23.1, 14.5

MS (ES+): *m/z* 308.2 ([M+H]⁺, 100%), 330.1 ([M+Na]⁺, 33%)

MP 65-67°C

methyl 5-dodecyloxy-2-amino-benzoate **4f**

To a solution of methyl 5-dodecyloxy-2-nitro-benzoate **3f** (6.97g, 19.1mmol, 1.0equiv.) in a mixture of MeOH/Ethyl acetate (200mL, 1/1), is added Pd/C (2.0g, 30% wt). The suspension is submitted to three cycles vacuum/ nitrogen, then 2 cycles vacuum/H₂ and finally let under H₂ until the required volume is consumed. The reaction is stopped by three cycles vacuum/nitrogen, the suspension is filtered on celite and the filtrate concentrated under reduced pressure to give methyl 5-dodecyloxy-2-amino-benzoate **4f** (6.02g, 95% chemical yield) as a white powder.

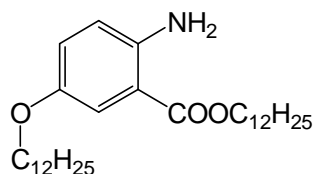
Rf (DCM): 0.76 (DCM/hexane 7/3): 0.18

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.38 (s, 1H), 6.98 (d, J=9.0Hz, 1H), 6.66 (d, J=9.0Hz, 1H), 5.33 (s broad, 2H), 3.91 (m, 5H), 1.78 (m, 2H), 1.4 (m, 18H), 0.92 (m, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 168.34, 150.1, 145.0, 123.84, 118.2, 114.4, 110.84, 68.9, 51.6, 31.94, 29.69, 29.66, 29.62 (2C), 29.44, 29.40, 29.37, 26.1, 22.7, 14.1

MS (CI⁺): *m/z* 336 ([M+H]⁺, 100%)

MP 71-73°C

dodecyl 2-amino-5-dodecyloxy-benzoate **4f***

To a solution of dodecyl 2-nitro-5-dodecyloxy-benzoate **1f** (2.75g, 5.3mmol, 1.0equiv.) in ethyl acetate (100mL), is added Pd/C (0.88g, 30% wt). The suspension is submitted to three cycles vacuum/nitrogen, then 2 cycles vacuum/H₂ and finally let under H₂ until the required volume is consumed. The reaction is stopped by three cycles vacuum/nitrogen, the suspension is filtered on celite and the filtrate concentrated under reduced pressure to give dodecyl 5-dodecyloxy-2-amino-benzoate **4f*** (2.45g, 94.3% chemical yield) as a white powder.

Rf (DCM): 0.33

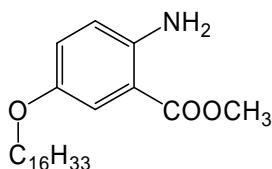
¹H-NMR (300MHz, acetone-d₆): δ (ppm). 7.35 (d, J=3.0Hz, 1H), 6.96 (dd, J=9.0Hz and 3.0Hz, 1H), 6.76 (d, J=9.0Hz, 1H), 6.06 (s broad, 2H), 4.26 (t, J=6.6Hz, 2H), 3.89 (t, J=6.6Hz, 2H), 1.76 (m, 4H), 1.39 (m, 36H), 0.90 (t, J=6.6Hz, 6H)

¹³C-NMR (75MHz, acetone-d₆): δ (ppm). 167.5, 149.3, 146.3, 123.4, 117.9, 114.1, 109.8, 68.4, 64.0, 31.9 (2C), 29.6 (2C), 29.55 (2C), 29.53 (2C), 29.4, 29.36 (2C), 29.31, 28.7, 26.1, 26.0, 22.5 (2C), 13.6 (2C), (3C under solvent signals)

MS (CI⁺): *m/z* 490 ([M+H]⁺, 100%)

MP 39-40°C

methyl 5-hexadecyloxy-2-amino-benzoate **4g**



To a solution of methyl 5-hexadecyloxy-2-nitro-benzoate **3g** (4.70g, 11.1mmol, 1.0equiv.) in a mixture of MeOH/Ethyl acetate (140mL, 1/1), is added Pd/C (1.4g, 30% wt). The suspension is submitted to three cycles vacuum/ nitrogen, then 2 cycles vacuum/H₂ and finally let under H₂ until the required volume is consumed. The reaction is stopped by three cycles vacuum/nitrogen. A white solid precipitates during the reaction. The suspension is filtered on celite, the residue is washed with DCM and the filtrate is concentrated under reduced pressure to give methyl 5-hexadecyloxy-2-amino-benzoate **4g** (4.19g, 96% chemical yield) as a white powder.

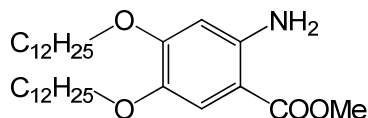
Rf (DCM): 0.18

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.27 (d, J=2.7Hz, 1H), 6.87 (dd, J=9.0Hz, and 2.7Hz, 1H), 6.55 (d, J=9.0Hz, 1H), 3.81 (m, 5H), 1.66 (quint, J=7.2Hz, 2H), 1.27 (m, 26H), 0.80 (t, J=6.6Hz, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 168.7, 150.8, 144.7, 124.1, 118.85, 114.8, 111.6, 69.2, 52.0, 32.3, 30.1 (5C), 30.0 (3C), 29.81, 29.76 (2C), 26.4, 23.1, 14.5

MS (ESI): *m/z* 392.2 ([M+H]⁺, 100%)

MP 76-84°C

methyl 2-amino-4,5-didodecyloxy-benzoate **4i**

To a solution of methyl 2-nitro-4,5-didodecyloxy-benzoate **3i** (3.73g, 6.78mmol, 1.0equiv.) in a mixture of MeOH/Ethyl acetate (100mL, 1/3), is added Pd/C (1.2g, 30% wt). The suspension is submitted to three cycles vacuum/ nitrogen, then 2 cycles vacuum/H₂ and finally let under H₂ until the required volume is consumed. The reaction is stopped by three cycles vacuum/nitrogen, the suspension is filtered on celite and the filtrate concentrated under reduced pressure to give methyl 2-amino-4,5-didodecyloxy-benzoate **4i** (3.53g, quantitative chemical yield) as a white powder.

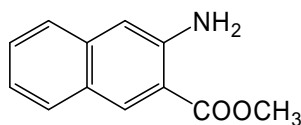
Rf (DCM): 0.3

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.35 (s, 1H), 6.20 (s, 1H), 3.96 (t, J=6.0Hz, 2H), 3.91 (t, J=6.0Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 1.80 (m, 4H), 1.3 (m, 4H), 1.3 (m, 32H), 0.88 (t, J=6.0Hz, 6H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 168.3, 155.7, 147.4, 140.3, 116.7, 102.3, 100.4, 70.8, 68.7, 51.4, 32.07 (2C), 29.85 (2C), 29.84 (2C), 29.80 (3C), 29.76 (2C), 29.61, 29.60, 29.51 (2C), 29.11, 26.2, 26.13, 22.8 (2C), 14.3 (2C)

MS (TOF APCI+): m/z 542.5 ([M+Na]⁺, 34.6%), 520.5 ([M+H]⁺, 68.7%), 488.4 ([M-CH₃O]⁺, 100%)

MP 78°C

3-amino-2-methoxycarbonyl-naphthalene **4j**

To a solution of 3-amino-2-naphthoic acid (2.5g, 13.4mmol, 1.0equiv.) in MeOH (190mL) is slowly added concentrated H₂SO₄ (12mL). The solution is heated to reflux under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, the volume of the solution is reduced to 60mL and a mixture of DCM-NaHCO₃ 5% (240mL, 2/1) is added. The organic layer is washed with H₂O (50mL). The aqueous phase is adjusted to pH 9 by addition of NaOH 1M, the obtained precipitate is

extracted with DCM (3x100mL). The organic phases are combined, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford 2-amino-3-methoxycarbonylnaphthalene **4j** (2.33g, 86.5 % chemical yield) as a brownish solid.

Rf(DCM): 0.17

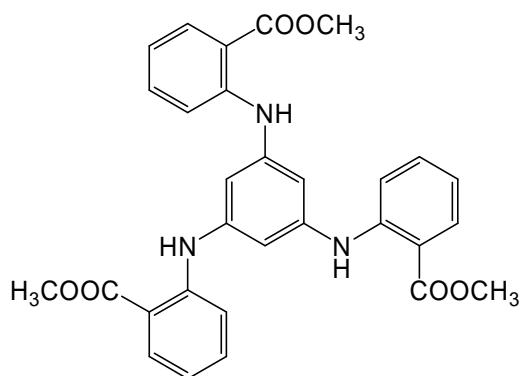
¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 8.5 (s, 1H), 7.71 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.53 (d, J=8.1Hz, 1H), 7.4 (td, J=8.1Hz and 1.2Hz, 1H), 7.18 (td, J=8.1Hz and 0.9Hz, 1H), 6.974 (s, 1H), 5.58 (s broad, 2H), 3.96 (s, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 168.4, 146.0, 137.4, 133.5, 129.8, 128.8, 126.0, 125.2, 122.6, 114.7, 110.0, 52.0

MS (ES⁺): *m/z* 202.2 ([M+H]⁺, 100%), 224.1 ([M+Na]⁺, 15%)

MP 100-102°C

N,N,N-(2-methoxycarbonylphenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5a**



To a mixture of 1,3,5-tribromobenzene (2.0g, 6.4mmol, 1.0equiv.), methyl anthranilate (3mL, 22.3mmol, 3.5equiv.), cesium carbonate (10.4mg, 31.8mmol, 5equiv.) and Pd(OAc)₂ (85.6mg, 0.38mmol, 0.06equiv.) in toluene (60mL) is finally added tri-tert-butylphosphine (3.6mL, 1.15mmol, 0.18equiv.). The mixture is stirred at reflux 72hrs under nitrogen. After cooling to RT, the mixture is filtered on celite and the filtrate is evaporated to dryness. The residue is taken up in a mixture DCM/NH₄Cl 1M (2/1, 180mL), the organic phase is separated, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is taken up in a mixture ethyl acetate/hexane (85/15, 50mL) and the obtained suspension is filtered to afford **5a** as a white solid (3.04g, 91% chemical yield).

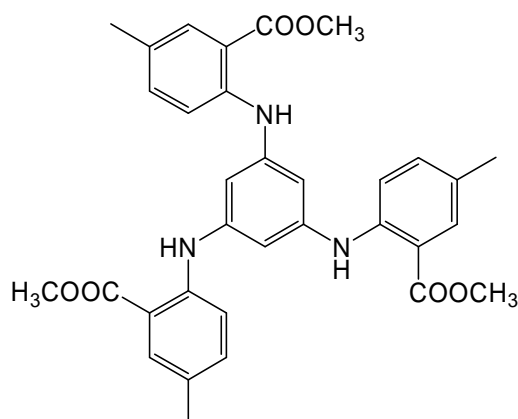
¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 9.49 (s, 3H), 7.99 (d, J= 7.35Hz, 3H), 7.35 (m, 6H), 6.88 (s, 3H), 6.79 (m, 3H), 3.94 (s, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 168.9, 147.3, 142.9, 134.15, 131.6, 117.6, 114.9, 112.5, 110.1, 51.9

MS (CI⁺): *m/z* 526 ([M+H]⁺, 100%)

MP 95-100°C

N,N,N-(2-methoxycarbonyl-4-methyl-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5b**



To a mixture of 1,3,5-tribromobenzene (3.00g, 9.56mmol, 1.0equiv.), methyl 5-methyl-2-nitro-benzoate **4b** (4.82g, 29.1mmol, 3.05equiv.), cesium carbonate (15.60g, 47.8mmol, 5.0equiv.) and Pd(OAc)₂ (129.0mg, 0.57mmol, 0.06equiv.) in toluene (100mL) is finally added tri-tert-butylphosphine (5.5mL, 1.72mmol, 0.18equiv.). The mixture is stirred at reflux for 72hrs under nitrogen. After cooling to RT, the mixture is filtered on celite and the filtrate is evaporated to dryness. The residue is taken up in a mixture DCM/NH₄Cl 1M (2/1, 360mL), the organic phase is separated, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is taken up in a mixture ethyl acetate/hexane (85/15, 50mL) and the obtained suspension is filtered to afford *N,N,N*-(2-methoxycarbonyl-4-methyl-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5b** as a white solid (5.42g, 99% chemical yield).

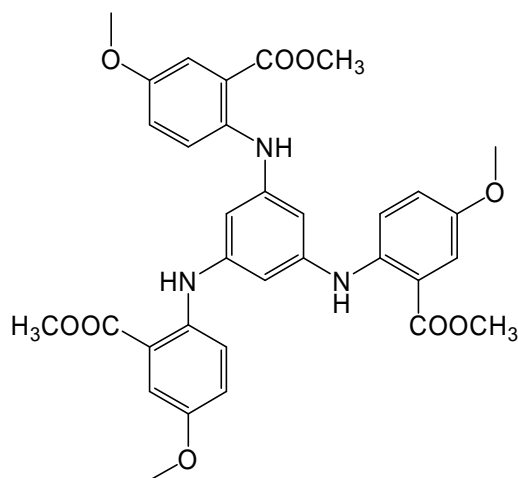
R_f(DCM): 0.64

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 9.42 (s, 3H), 7.85 (s, 3H), 7.28 (m, 6H), 6.87 (s, 3H), 3.96 (s, 9H), 2.34 (s, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 168.8, 145.0, 143.4, 135.1, 131.5, 126.9, 115.5, 112.6, 108.0, 51.8, 20.4

MS (ES⁺): *m/z* 568.2 ([M+H]⁺, 100%), 590.2 ([M+H]⁺, 97%)

MP 174-176°C

N,N,N-(2-methoxycarbonyl-4-methoxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5c**

To a mixture of 1,3,5-tribromobenzene (4.69g, 14.9mmol, 1.0equiv.), methyl 2-amino-5-methoxy benzoate **4c** (8.22g, 45.4mmol, 3.05equiv.), cesium carbonate (24.30g, 74.5mmol, 5.0equiv.) and Pd(OAc)₂ (200.0mg, 0.89mmol, 0.06equiv.) in toluene (160mL) is finally added tri-*tert*-butylphosphine (8.6mL, 2.7mmol, 0.18equiv.). The mixture is stirred at reflux for 72hrs under nitrogen. After cooling to RT, the mixture is filtered on celite and the filtrate is evaporated to dryness. The residue is taken up in a mixture DCM/NH₄Cl 1M (2/1, 360mL), the organic phase is separated, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is taken up in ethyl acetate and the resulting precipitate is filtered to afford *N,N,N*-(2-methoxycarbonyl-4-methoxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5c** as a yellow solid (8.25g, 90% chemical yield).

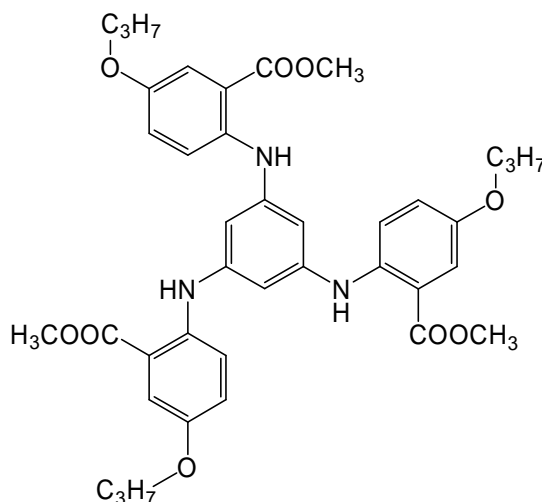
Rf (DCM/MeOH 95/5): 0.9

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 9.03 (s, 3H), 7.476 (d, J=3Hz, 3H), 7.38 (d, J=9.0Hz, 3H), 7.05 (dd, J=9.0Hz and 3.0Hz, 3H), 6.69 (s, 3H), 3.93 (s, 9H), 3.83 (s, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 168.4, 151.5, 143.9, 141.4, 122.3, 117.8, 114.1, 113.5, 106.3, 55.8, 51.9

MS (CI⁺): *m/z* 616 ([M+H]⁺, 100%)

MP 72°C

N,N,N-(2-methoxycarbonyl-4-propyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5d**

To a mixture of 1,3,5-tribromobenzene (1.96g, 6.23mmol, 1.0equiv.), methyl 5-propyloxy-2-amino-benzoate **4d** (4.10g, 19.6mmol, 3.1equiv.), cesium carbonate (10.10g, 31.1mmol, 5.0equiv.) and Pd(OAc)₂ (84.0mg, 0.37mmol, 0.06equiv.) in toluene (75mL) is finally added tri-tert-butylphosphine (3.9mL, 1.12mmol, 0.18equiv.). The mixture is stirred at reflux for 72hrs under nitrogen. After cooling to RT, the mixture is filtered on celite and the filtrate is evaporated to dryness. The residue is taken up in a mixture DCM/NH₄Cl 1M (2/1, 225mL), the organic phase is separated, dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is purified by precipitation in acetone to afford *N,N,N*-(2-methoxycarbonyl-4-propyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5d** as a yellow solid (4.35g, quantitative chemical yield).

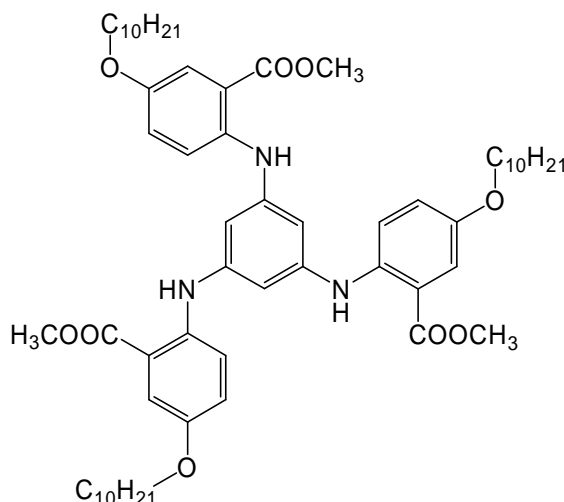
Rf (DCM): 0.2 (DCM/hexane 9/1): 0.16

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 8.89 (s, 3H), 7.36 (d, J=2.7Hz, 3H), 7.26 (d, J=9.0Hz, 3H), 6.93 (dd, J=9.0Hz and 2.7Hz, 3H), 6.56 (s, 3H), 3.8 (m, 15H), 1.71 (sext, J=7.2Hz, 6H), 0.96 (t, J=7.5Hz, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 167.4, 149.95, 142.9, 140.2, 121.8, 116.7, 114.1, 112.5, 105.0, 69.2, 50.9, 21.6, 9.5

MS (ES⁺): *m/z* 700.3 ([M+H]⁺, 100%), 722.3 ([M+Na]⁺, 81.5%)

MP 220-222°C

N,N,N-(2-methoxycarbonyl-4-decyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5e**

To a mixture of 1,3,5-tribromobenzene (1.66g, 5.3mmol, 1.0equiv.), methyl 5-decyloxy-2-amino-benzoate **4e** (5.04g, 16.4mmol, 3.1equiv.), cesium carbonate (8.60g, 26.5mmol, 5.0equiv.) and Pd(OAc)₂ (72.0mg, 0.32mmol, 0.06equiv.) in toluene (65mL) is finally added tri-tert-butylphosphine (3.3mL, 1.0mmol, 0.18equiv.). The mixture is stirred at reflux for 72hrs under nitrogen. After cooling to RT, the mixture is filtered on celite and the filtrate is evaporated to dryness. The residue is taken up in a mixture DCM/NH₄Cl 1M (2/1, 240mL), the organic phase is separated, dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is purified by column chromatography on silica gel (residue pre-adsorbed on silica, eluent DCM/hexane 9/1) to afford *N,N,N*-(2-methoxycarbonyl-4-decyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5e** as a yellow oil (2.85g, 54% chemical yield).

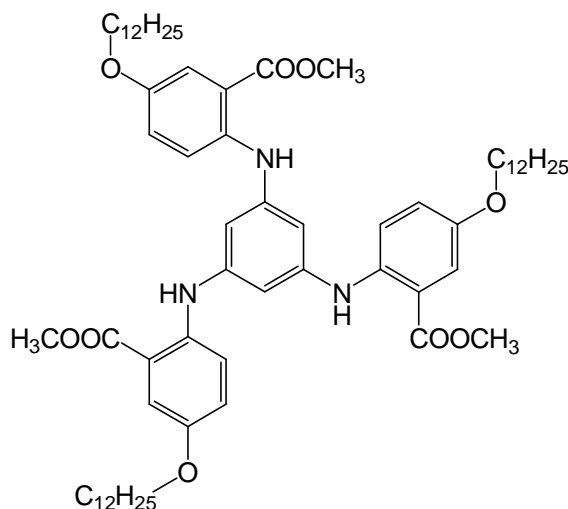
R_f (DCM/hexane 9/1) 0.2

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 8.89 (s, 3H), 7.35 (d, J=3Hz, 3H), 7.25 (d, J=9.0Hz, 3H), 6.925 (dd, J=9.0Hz and 3.0Hz, 3H), 6.56 (s, 3H), 3.82 (m, 15H), 1.68 (quint, J=6.6Hz, 6H), 1.40 (m, 42H), 0.80 (t, J=6.6Hz, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 168.8, 151.4, 144.3, 141.6, 123.0, 118.0, 115.4, 113.8, 106.4, 69.0, 52.15, 32.35, 30.05, 30.02, 29.87, 29.79, 27.3, 26.5, 23.1, 14.5

MS (ES⁺): *m/z* 994.5 ([M+H]⁺, 100%)

MP 71-73°C

N,N,N-(2-methoxycarbonyl-4-dodecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5f**

To a mixture of 1,3,5-tribromobenzene (1.63g, 5.2mmol, 1.0equiv.), methyl 5-dodecyloxy-2-amino-benzoate **4f** (5.48g, 16.35mmol, 3.1equiv.), cesium carbonate (8.50g, 26.0mmol, 5.0equiv.) and Pd(OAc)₂ (70.0mg, 0.3mmol, 0.06equiv.) in toluene (60mL) is finally added tri-tert-butylphosphine (3.2mL, 0.9mmol, 0.18equiv.). The mixture is stirred at reflux for 72hrs under nitrogen. After cooling to RT, the mixture is filtered on celite and the filtrate is evaporated to dryness. The residue is taken up in a mixture DCM/NH₄Cl 1M (2/1, 240mL), the organic phase is separated, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is filtered on silica gel (eluent DCM/hexane 9/1) to afford *N,N,N*-(2-methoxycarbonyl-4-dodecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5f** as a yellow oily solid (5.55g, 99% chemical yield).

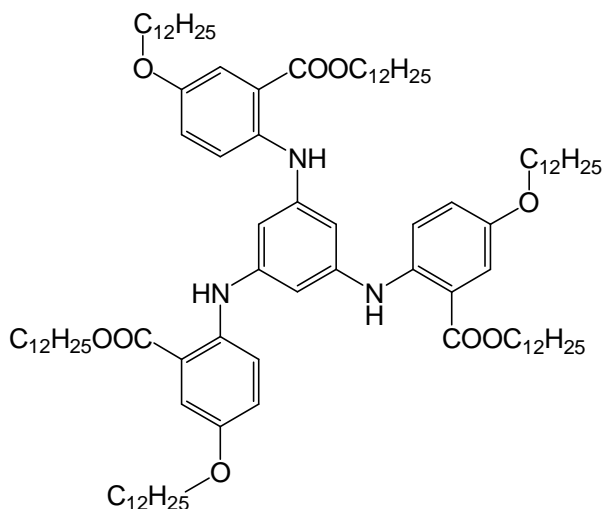
Rf (DCM): 0.88 (DCM/hexane 9/1): 0.77

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 9.01 (s, 3H), 7.47 (d, J=3.0Hz, 3H), 7.37 (d, J=9.0Hz, 3H), 7.04 (dd, J=9.0Hz and 3.0Hz, 3H), 6.68 (s, 3H), 3.95 (m, 15H), 1.80 (quint, J=6.6Hz, 6H), 1.38 (m, 54H), 0.91 (t, J=6.6Hz, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 168.4, 151.0, 143.9, 141.2, 122.7, 117.6, 115.1, 113.5, 105.95, 68.7, 51.8, 31.97, 29.72, 29.69, 29.66 (2C), 29.47, 29.40 (2C), 26.1, 22.7, 14.1

MS (APCI): *m/z* 1078.8 ([M+H]⁺, 100%), 745.9 ([C₄₆H₆₈N₂O₆] fragmentation, 44%)

MP 66-67°C

N,N,N-(2-dodecyloxycarbonyl-4-dodecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5f***

To a mixture of 1,3,5-tribromobenzene (25.9mg, 0.08mmol, 1.0equiv.), dodecyl 2-amino-5-dodecyloxy-benzoate **4f*** (129.0mg, 0.26mmol, 3.2equiv.), cesium carbonate (135.0mg, 0.41mmol, 5.0equiv.) and Pd(OAc)₂ (1.2mg, 0.0049mmol, 0.06equiv.) in toluene (5mL) is finally added tri-tert-butylphosphine (50μL, 0.015mmol, 0.18equiv.). The mixture is stirred at reflux for 16hrs under nitrogen. After cooling to RT, the mixture is filtered on celite and the filtrate is evaporated to dryness. The residue is taken up in a mixture DCM/NH₄Cl 1M (2/1, 45mL), the organic phase is separated, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM) to afford *N,N,N*-(2-dodecyloxycarbonyl-4-dodecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5f*** as a yellow oily solid (122.0mg, 96.2% chemical yield).

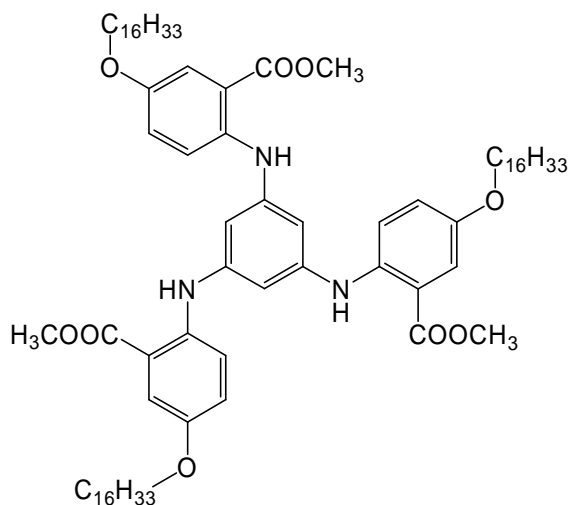
R_f (DCM): 0.75

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 9.06 (s, 3H), 7.50 (d, J=3.0Hz, 3H), 7.39 (d, J=9.0Hz, 3H), 7.05 (dd, J=9.0Hz and 3.0Hz, 3H), 6.69 (s, 3H), 4.33 (t, J=6.6Hz, 6H), 3.97 (t, J=6.6Hz, 6H), 1.81 (m, 12H), 1.40 (m, 108H), 0.93 (t, J=6.6Hz, 18H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 168.1, 150.95, 144.0, 141.2, 122.3, 117.65, 115.5, 114.0, 105.8, 68.8, 65.0, 32.0 (2C), 29.7, 29.65 (3C), 29.63 (3C), 29.58, 29.47, 29.4 (4C), 29.3, 28.7, 26.1, 22.7 (2C), 14.1 (2C)

MS (FAB+): *m/z* 1541.2 ([M], 100%)

MP <50°C

N,N,N-(2-methoxycarbonyl-4-hexadecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5g**

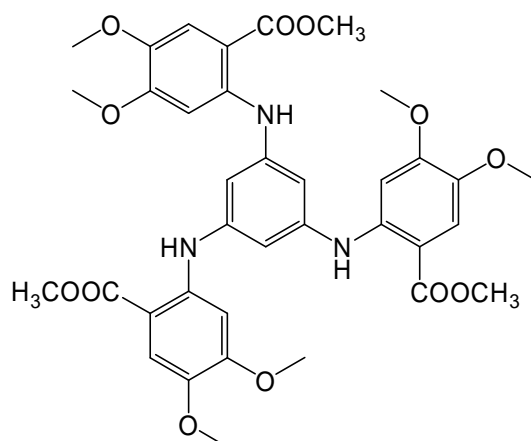
To a mixture of 1,3,5-tribromobenzene (1.06g, 3.38mmol, 1.0equiv.), methyl 5-hexadecyloxy-2-amino-benzoate **4g** (4.17g, 10.7mmol, 3.1equiv.), cesium carbonate (5.50g, 16.9mmol, 5.0equiv.) and Pd(OAc)₂ (46.0mg, 0.2mmol, 0.06equiv.) in toluene (40mL) is finally added tri-tert-butylphosphine (2.7mL, 0.6mmol, 0.18equiv.). The mixture is stirred at reflux 72hrs under nitrogen. After cooling to RT, the mixture is filtered on celite and the filtrate is evaporated to dryness. The residue is taken up in a mixture DCM/NH₄Cl 1M (2/1, 300mL), the organic phase is separated, dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford N,N,N-(2-methoxycarbonyl-4-hexadecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5g** as a white solid (4.04g, 95.7 % chemical yield).

Rf (DCM): 0.8

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 8.89 (s, 3H), 7.35 (d, J=3.0Hz, 3H), 7.26 (d, J=9.0Hz, 3H), 6.92 (dd, J=9.0Hz and 3.0Hz, 3H), 6.56 (s, 3H), 3.82 (m, 15H), 1.68 (quint, J=6.9Hz, 6H), 1.275 (m, 78H), 0.80 (t, J=6.6Hz, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 167.5, 150.1, 143.0, 140.25, 121.85, 116.7, 114.1, 112.6, 105.2, 67.8, 51.0, 31.0, 28.8 (6C), 28.75, 28.71, 28.70, 28.52, 28.45, 25.15, 21.8, 13.2

MS (ES⁺): *m/z* 1269.0 ([M+Na]⁺, 100%)

N,N,N-(2-methoxycarbonyl-4,5-dimethoxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5h**

To a mixture of 1,3,5-tribromobenzene (3.91g, 12.4mmol, 1.0equiv.), methyl-2-amino-3,5-dimethoxy-benzoate (8.00g, 37.9mmol, 3.05equiv.), cesium carbonate (20.20g, 62.1mmol, 5.0equiv.) and Pd(OAc)₂ (167.0mg, 0.75mmol, 0.06equiv.) in toluene (130mL) is finally added tri-tert-butylphosphine (6.8mL, 2.24mmol, 0.18equiv.). The mixture is stirred at reflux for 72hrs under nitrogen. After cooling to RT, the mixture is filtered on celite and the filtrate is evaporated to dryness. The residue is taken up in a mixture DCM/NH₄Cl 1M (2/1, 380mL), the organic phase is separated, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is taken up in a mixture hexane/ethyl acetate (90/10) and the obtained precipitate is filtered to afford *N,N,N*-(2-methoxycarbonyl-4,5-dimethoxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5h** as a white solid (8.76g, 99% chemical yield).

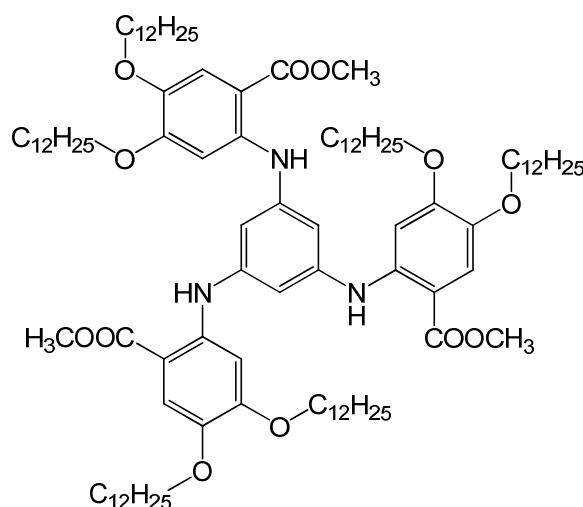
Rf (DCM/MeOH 95/5): 0.7

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 9.39 (s, 3H), 7.49 (s, 3H), 6.9 (s, 3H), 6.82 (s, 3H), 3.91 (s, 9H), 3.9 (s, 9H), 3.83 (s, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 168.3, 154.4, 144.1, 143.4, 141.6, 113.2, 107.0, 104.8, 99.5, 56.4, 56.0, 51.6

MS (CI⁺): *m/z* 706.4 ([M+H]⁺, 100%)

MP 144-149°C

N,N,N-(2-methoxycarbonyl-4,5-didodecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5i**

To a mixture of 1,3,5-tribromobenzene (0.60g, 1.91mmol, 1.0equiv.), methyl 2-amino-4,5-didodecyloxy-benzoate **4i** (3.06g, 5.9mmol, 3.08equiv.), cesium carbonate (3.11g, 9.5mmol, 5.0equiv.) and Pd(OAc)₂ (26.0mg, 0.11mmol, 0.06equiv.) in toluene (25mL) is finally added tri-*tert*-butylphosphine (1.6mL, 0.34mmol, 0.18equiv.). The mixture is stirred at reflux for five days under nitrogen. After cooling to RT, the mixture is filtered on celite and the filtrate is evaporated to dryness. The residue is taken up in a mixture DCM/NH₄Cl 1M (2/1, 180mL), the organic phase is separated, dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is filtered on silica gel (eluent DCM/cyclohexane 3/1) and the desired fractions are concentrated. The residue is taken up in ethyl acetate and the precipitate is filtered to afford *N,N,N*-(2-methoxycarbonyl-4,5-didodecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5i** as a pale yellow solid (2.30, 73.7% chemical yield).

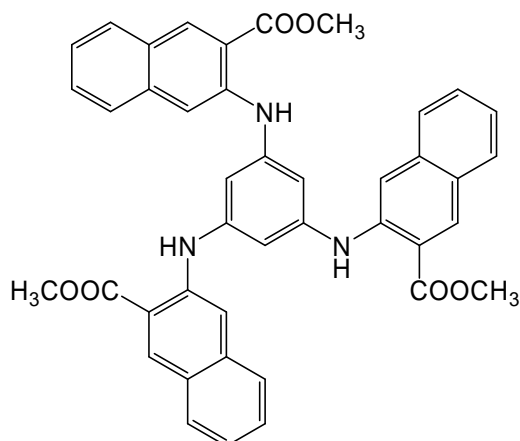
R_f (DCM): 0.7

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 9.4 (s, 3H), 7.44 (s, 3H), 6.9 (s, 3H), 6.8 (s, 3H), 3.95 (t, J=6.0, 6H), 3.9 (m, 15H), 1.80 (m, 12H), 1.3 (m, 108H), 0.88 (t, J=6.0, 18H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 168.4, 155.1, 144.1, 143.6, 141.2, 116.7, 106.2, 104.7, 100.6, 70.5, 69.0, 51.6, 32.1 (2C), 29.9 (2C), 29.8 (7C), 29.63, 29.57, 29.53 (2C), 29.11, 26.2, 26.1, 22.8 (2C), 14.2 (2C)

MS (ES⁺): m/z 1136.0 ([C₇₀H₁₁₆N₂O₈ + Na]⁺ fragmentation, 100%), 1631.2 ([M+H]⁺, 63%)

MP 62-64°C

N,N,N-(2-methoxycarbonylnaphthyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5j**

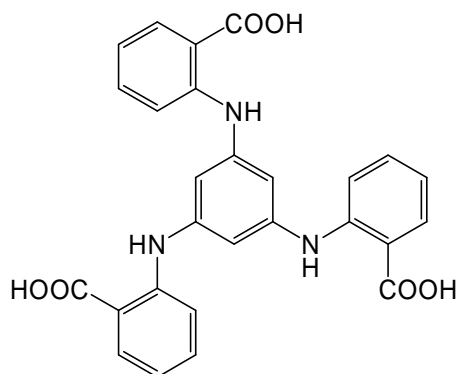
To a mixture of 1,3,5-tribromobenzene (1.17g, 3.7mmol, 1.0equiv.), 2-amino-3-methoxycarbonyl-naphthalene **4j** (2.28g, 11.3mmol, 3.05equiv.), cesium carbonate (6.10g, 18.6mmol, 5.0equiv.) and Pd(OAc)₂ (81.0mg, 0.22mmol, 0.06equiv.) in toluene (40mL) is finally added tri-*tert*-butylphosphine (2.2mL, 0.66mmol, 0.18equiv.). The mixture is stirred at reflux for 72hrs under nitrogen. After cooling to RT, the mixture is filtered on celite and the filtrate is evaporated to dryness. The residue is taken up in a mixture DCM/NH₄Cl 1M (2/1, 240mL), the organic phase is separated, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is taken up in ethyl acetate et the resulting precipitate is filtered to afford *N,N,N*-(2-methoxycarbonylnaphthyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5j** as a yellow solid (1.90g, 75.6% chemical yield).

R_f (DCM): 0.48

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 9.14 (s, 3H), 8.5 (s, 3H), 7.65 (m, 3H), 7.525 (d, J=8.4Hz, 3H), 7.33 (t, J=7.2Hz, 3H), 7.15 (t, J=7.2Hz, 3H), 6.96 (s, 3H), 3.9 (s, 9H)

MS (ES⁺): *m/z* 676.1 ([M+H]⁺, 100%)

MP 239-242°C

N,N,N-(2-hydroxycarbonylphenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6a**

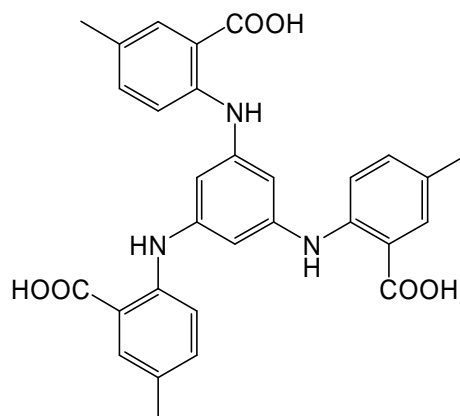
N,N,N-(2-methoxycarbonylphenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5a** (10.12g, 19.3mmol, 1.0equiv.) is dissolved in acetone (560mL) and a 5% aqueous solution of NaOH is added (185mL, 230mmol, 12.0equiv.). The solution is stirred at reflux under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, a mixture of DCM/H₂O (1/1, 1L) is added. After phases' separation, the aqueous phase is acidified to pH 1 by addition of a solution of HCl (1M). The obtained suspension is filtered to afford **6a** as a white solid which is dried under vacuum at 100°C for 2 hrs (9.30g, quantitative chemical yield).

¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ (ppm). 9.6 (s broad, 3H), 7.89 (dd, J=1.5Hz, 7.8Hz, 3H), 7.42 (m, 6H), 6.81 (m, 3H), 6.75 (s, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, DMSO-d₆): δ (ppm). 170.2, 146.7, 143.4, 134.5, 132.3, 118.4, 115.7, 114.1, 107.2

MS (FAB+): *m/z* 484.3 ([M+H]⁺, 100%)

MP >260°C

N,N,N-(2-hydroxycarbonyl-4-methyl-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6b**

N,N,N-(2-methoxycarbonyl-4-methyl-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5b** (5.42g, 9.5mmol, 1.0equiv.) is dissolved in acetone (290mL) and a 5% aqueous solution of NaOH is added (100mL, 114mmol, 12.0equiv.). The solution is stirred at reflux under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, a mixture of DCM/H₂O (1/1, 520mL) is added. After phases' separation, the aqueous phase is acidified to pH 1 by addition of a solution of HCl (1M). The obtained suspension is filtered to afford **6b** as a green solid which is dried under vacuum at 100°C for 2 hrs (4.99g, quantitative chemical yield).

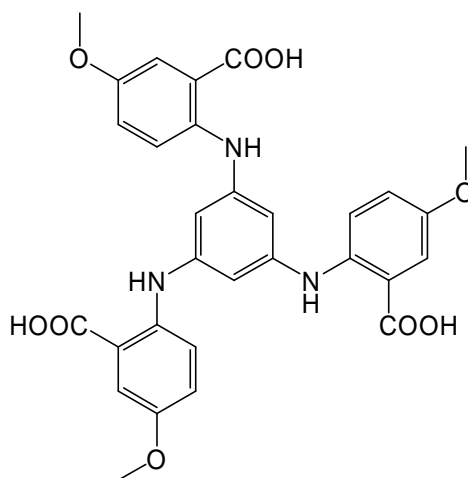
¹H-NMR (300MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm). 13.043 (s broad, 3H), 9.36 (s, 3H), 7.70 (s, 3H), 7.29 (m, 6H), 6.63 (s, 3H), 2.23 (s, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm). 170.2, 144.3, 143.7, 135.3, 132.4, 127.3, 116.3, 114.2, 105.4, 20.4

MS (ES⁺): *m/z* 526.1 ([M+H]⁺, 100%)

MS (ES⁻): *m/z* 524.1 ([M-H]⁻, 100%)

MP >260°C

N,N,N-(2-hydroxycarbonyl-4-methoxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6c**

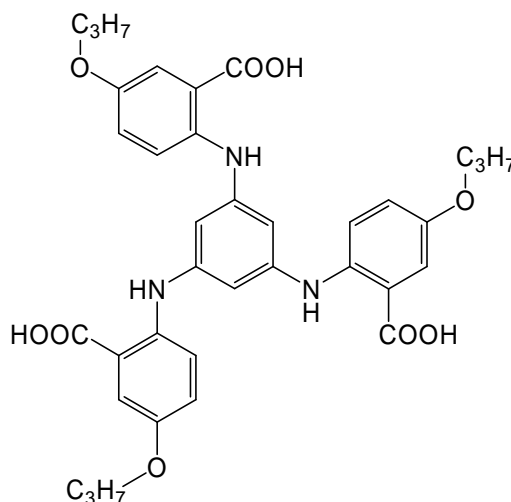
N,N,N-(2-methoxycarbonyl-4-methoxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5c** (5.06g, 8.2mmol, 1.0equiv.) is dissolved in acetone (240mL) and a 5% aqueous solution of NaOH is added (85mL, 98.0mmol, 12.0equiv.). The solution is stirred at reflux under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, a mixture of DCM/H₂O (1/1, 430mL) is added. After phases' separation, the aqueous phase is acidified to pH 1 by addition of a solution of HCl (1M). The obtained suspension is filtered to afford *N,N,N*-(2-hydroxycarbonyl-4-methoxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6c** as a green solid which is dried under vacuum at 100°C for 2 hrs (4.70g, quantitative chemical yield).

¹H-NMR (300MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm). 9.04 (s, 3H), 7.33-7.37 (m, 6H), 7.14 (dd, *J*= 3Hz and 9Hz, 3H), 6.46 (s, 3H), 3.73 (s, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm). 169.7, 151.9, 144.7, 140.4, 121.5, 118.9, 116.7, 115.1, 102.6, 55.8

MS (FAB): *m/z* 574.2 ([*M*+*H*]⁺, 100%)

MP 225-228°C

N,N,N-(2-hydroxycarbonyl-4-propyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6d**

N,N,N-(2-methoxycarbonyl-4-propyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5d** (4.35g, 6.2mmol, 1.0equiv.) is suspended in acetone (180mL) and a 5% aqueous solution of NaOH is added (70mL, 75.0mmol, 12.0equiv.). The solution is stirred at reflux under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, a mixture of DCM/H₂O (1/1, 360mL) is added. After elimination of the organic phase, the aqueous phase is acidified to pH 1 by addition of a solution of HCl (1M). The resulting precipitate is filtered and dried to afford *N,N,N*-(2-hydroxycarbonyl-4-propyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6d** as a yellow green solid (3.92g, 96% chemical yield).

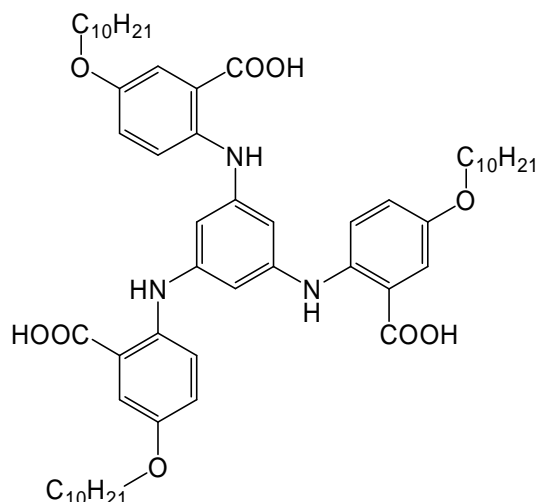
¹H-NMR (300MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm). 8.92 (s broad (NH), 3H), 7.26 (d, *J*=3.0Hz, 3H), 7.22 (s, 3H), 7.04 (dd, *J*=9.0Hz and 3.0Hz, 3H), 6.37 (s, 3H), 3.78 (t, *J*=6.6Hz, 6H), 1.61 (sext, *J*=7.2Hz, 6H), 0.87 (t, *J*=7.5Hz, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm). 169.8, 151.4, 144.7, 140.2, 122.5, 119.2, 116.03, 115.99, 102.95, 70.0, 22.6, 11.0

MS (ES⁺): *m/z* 658.2 ([*M*+H]⁺, 100%)

MS (ES⁻): *m/z* 656.1 ([*M*-H]⁻, 100%)

MP 226-228°C

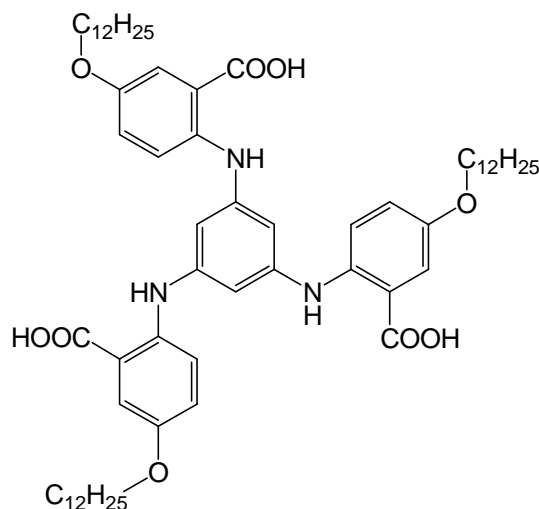
N,N,N-(2-hydroxycarbonyl-4-decyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6e**

N,N,N-(2-methoxycarbonyl-4-decyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5e** (1.14g, 1.15mmol, 1.0equiv.) is suspended in acetone (35mL) and a 5% aqueous solution of NaOH is added (15mL, 14.0mmol, 12.0equiv.). The solution is stirred at reflux under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, a mixture of DCM/H₂O (1/1, 100mL) is added. After elimination of the organic phase, the aqueous phase is acidified to pH 1 by addition of a solution of HCl (1M) and extracted with Et₂O (5x100mL). The ether phase is dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford *N,N,N*-(2-hydroxycarbonyl-4-decyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6e** as a green solid (874.0mg, 80% chemical yield).

¹H-NMR (300MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm). 13.0 (s broad), 7.24 (m, 6H), 7.02 (dd, *J*=9.0Hz and 3.0Hz, 3H), 6.35 (s, 3H), 3.81 (t, *J*=6.0Hz, 6H), 1.58 (m, 6H), 1.22 (m, 42H), 0.93 (t, *J*=6.6Hz, 9H)

MS (ES⁺): *m/z* 952.6 ([*M*+*H*]⁺, 100%)

MP 174-177°C

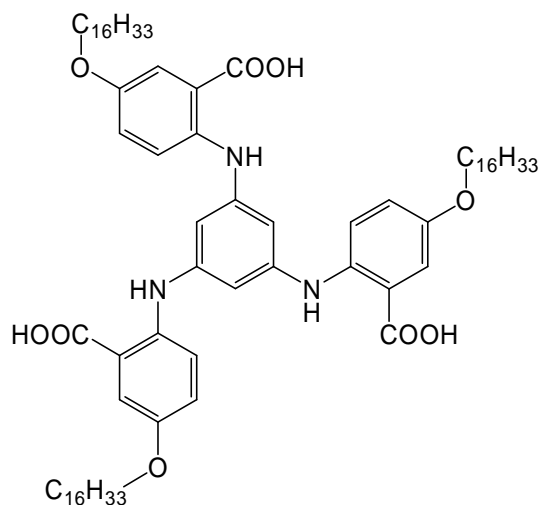
N,N,N-(2-hydroxycarbonyl-4-dodecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6f**

N,N,N-(2-methoxycarbonyl-4-dodecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5f** (5.55g, 5.1mmol, 1.0equiv.) is suspended in acetone (150mL) and a 5% aqueous solution of NaOH is added (55mL, 61.0mmol, 12.0equiv.). The solution is stirred at reflux under nitrogen for 20hrs. After cooling to RT, a mixture of DCM/H₂O (1/1, 280mL) is added. After elimination of the organic phase, the aqueous phase is acidified to pH 1 by addition of a solution of HCl (1M) and extracted with Et₂O (3x150mL). The ether phase is dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford *N,N,N*-(2-hydroxycarbonyl-4-dodecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6f** as a yellow green solid (4.35g, 81% chemical yield).

¹H-NMR (300MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm). 9.19 (s broad, 3H), 7.53 (d, *J*=2.7Hz, 3H), 7.46 (d, *J*=9.0Hz, 3H), 7.18 (dd, *J*=9.0Hz and 3.0Hz, 3H), 6.66 (s, 3H), 3.99 (t, *J*=6.0Hz, 6H), 1.78 (m, 6H), 1.40 (m, 54H), 0.89 (t, *J*=6.6Hz, 9H)

MS (FAB+): *m/z* 1036.7 ([*M*+H]⁺, 100%)

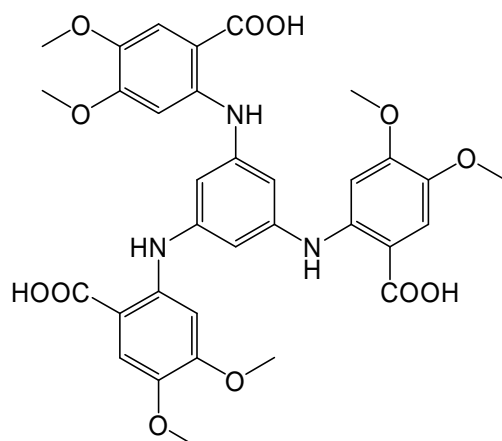
MP 163-167°C

N,N,N-(2-hydroxycarbonyl-4-hexadecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6g**

N,N,N-(2-methoxycarbonyl-4-hexadecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5g** (4.04g, 3.2mmol, 1.0equiv.) is suspended in acetone (100mL) and a 5% aqueous solution of NaOH is added (36mL, 39.0mmol, 12.0equiv.). The solution is stirred at reflux under nitrogen for 20hrs. After cooling to RT, a mixture of DCM/H₂O (1/1, 240mL) is added. After elimination of the organic phase, the aqueous phase is acidified to pH 1 by addition of a solution of HCl (1M) and extracted with Et₂O (3x150mL) and DCM (2x100mL). The organic phases are combined, dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is taken up in MeOH and the resulting precipitate is filtered and dried to afford *N,N,N*-(2-hydroxycarbonyl-4-hexadecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6g** as a green solid (3.89g, 99% chemical yield).

MS (MALDI): *m/z* 1204.85 ([M+H]⁺, 46%), 989.68 (100%)

MP 90-97°C

N,N,N-(2-hydroxycarbonyl-4,5-dimethoxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6h**

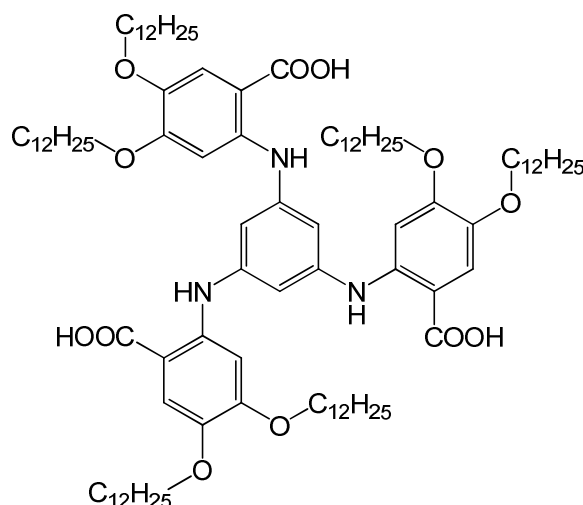
N,N,N-(2-methoxycarbonyl-4,5-dimethoxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5h** (5.42g, 7.7mmol, 1.0equiv.) is dissolved in acetone (225mL) and a 5% aqueous solution of NaOH is added (80mL, 92.0mmol, 12.0equiv.). The solution is stirred at reflux under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, a mixture of DCM/H₂O (1/1, 400mL) is added. After phases' separation, the aqueous phase is acidified to pH 1 by addition of a solution of HCl (1M). The obtained suspension is filtered to afford *N,N,N*-(2-hydroxycarbonyl-4,5-dimethoxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6h** as a dark green solid which is dried under vacuum at 100°C for 2 hrs (5.10g, quantitative chemical yield).

¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ (ppm). 12.8 (s broad, 3H), 9.4 (s, 3H), 7.36 (s, 3H), 6.91 (s, 3H), 6.65 (s, 3H), 3.72 (s, 9H), 3.695 (s, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, DMSO-d₆): δ (ppm). 169.65, 154.2, 144.7, 142.3, 142.0, 114.3, 106.7, 102.7, 101.4, 56.4, 55.9

MS (FAB+): *m/z* 664.26 ([M+H]⁺, 100%)

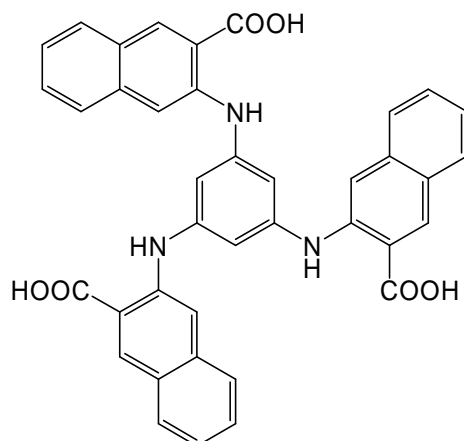
MP >260°C

N,N,N-(2-hydroxycarbonyl-4,5-didodecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6i**

N,N,N-(2-methoxycarbonyl-4,5-didodecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5i** (1.95g, 1.2mmol, 1.0equiv.) is dissolved in THF (40mL) and a 2M aqueous solution of NaOH is added (20mL, large excess). The biphasic solution is vigorously stirred at reflux under nitrogen for 4 days. After cooling to RT, the solution is concentrated under reduced pressure and a mixture of DCM/H₂O (1/1, 160mL) is added. After elimination of the organic phase, the aqueous phase is acidified to pH 1 by addition of a solution of HCl (1M) and extracted with Et₂O (4x150mL). The ether phase is dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford *N,N,N*-(2-hydroxycarbonyl-4,5-didodecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6i** as a red powder (1.90g, quantitative chemical yield).

MS (ES⁺): *m/z* 1589.6 ([M+H]⁺, 100%)

MP 239-243°C

N,N,N-(2-hydroxycarbonylnaphthyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6j**

N,N,N-(2-methoxycarbonylnaphthyl)-1,3,5-phenylenetriamine **5j** (1.74g, 2.6mmol, 1.0equiv.) is suspended in acetone (150mL) and a 5% aqueous solution of NaOH is added (60mL, large excess). The solution is stirred at reflux under nitrogen for 20hrs. After cooling to RT, a mixture of DCM/H₂O (1/1, 600mL) is added. After elimination of the organic phase, the aqueous phase is acidified to pH 1 by addition of a solution of HCl (1M) and the resulting precipitate is filtered and dried to afford *N,N,N*-(2-hydroxycarbonylnaphthyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6j** as a red brown solid (1.64g, 99% chemical yield).

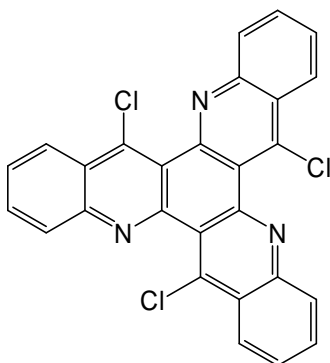
¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ (ppm). 13.5 (s broad, 3H), 9.37 (s, 3H), 8.6 (s, 3H), 7.84 (m, 6H), 7.47 (t, J=6.3Hz, 3H), 7.3 (t, J=6.3Hz, 3H), 6.9 (s, 3H)

MS (ES⁺): *m/z* 634.2 ([M+H]⁺, 100%)

MS (ES⁻): *m/z* 632.0 ([M-H]⁻, 100%)

MP >260°C

6,12,18-trichloro-5,11,17-triazatrinaphthylene 7a



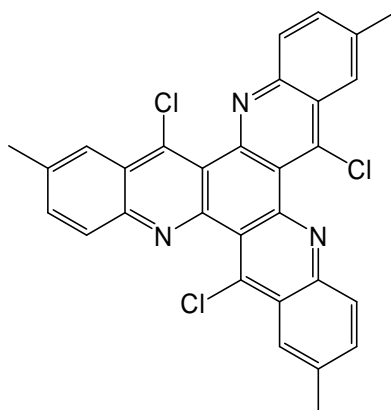
N,N,N-(2-hydroxycarbonylphenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6a** (3.77g, 7.8mmol, 1equiv.) is dried under vacuum at 110°C for 4hrs and POCl₃ (60mL, large excess) is added. The solution is stirred at reflux under nitrogen for 16hrs. After evaporation to dryness, the residue is dissolved in DCM (450mL) and slowly poured onto 230mL of an ice-cooled 15% NH₄OH. The biphasic mixture is filtered to afford **7a** as a grey solid (3.00g, 80% chemical yield).

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 8.73 (d, J=7.8Hz, 3H), 8.38 (d, J=7.8Hz, 3H), 7.94 (t, J=7.8Hz, 3H), 7.814 (t, J=7.8Hz, 3H)

MS (CI⁺): *m/z* 484 ([M], 100%), 486 (100%)

MP >360°C

UV-vis (CHCl₃) λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹cm⁻¹): 289 (66810), 301 (76690)

6,12,18-trichloro-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene 7b

N,N,N-(2-hydroxycarbonyl-4-methyl-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6b** (1.56g, 3.0mmol, 1.0equiv.) is dried under vacuum at 110°C for 4hrs and POCl₃ (30mL, large excess) is added. The solution is stirred at reflux under nitrogen for 20hrs. After evaporation to dryness, the residue is dissolved in DCM (180mL) and slowly poured onto 90mL of an ice-cooled 15% NH₄OH. The biphasic mixture is filtered; the residue is washed with DCM and dried with Et₂O to afford **7b** as grey solid (1.10g, 70% chemical yield).

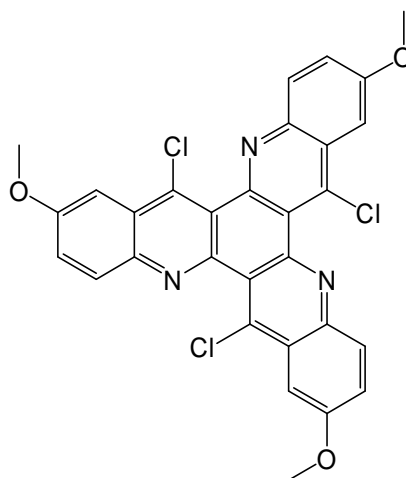
Rf(DCM):0.77

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 8.48 (s, 3H), 8.26 (d, J=8.4Hz, 3H), 7.76 (dd, J=8.4Hz and 1.8Hz, 3H), 2.72 (s, 9H)

MS (CI⁺): *m/z* 526 ([M+H]⁺, 100%)

MP >260°C

UV-vis (CHCl₃) λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹cm⁻¹): 294 (84330), 305 (92440)

6,12,18-trichloro-2,8,14-trimethoxy-5,11,17-triazatrinaphthylene 7c

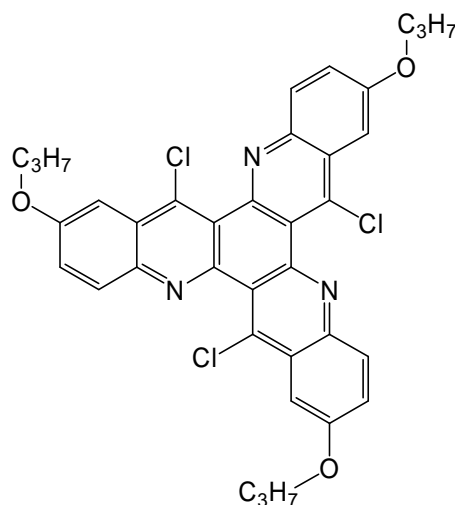
N,N,N-(2-hydroxycarbonyl-4-methoxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6c** (1.53g, 2.7mmol, 1.0equiv.) is dried under vacuum at 110°C for 4hrs and POCl₃ (25mL, large excess) is added. The solution is stirred at reflux under nitrogen for 72hrs. After evaporation to dryness, the residue is dissolved in DCM (160mL) and slowly poured onto 80mL of an ice-cooled 15% NH₄OH. The biphasic mixture is filtered to afford 6,12,18-trichloro-2,8,14-trimethoxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **7c** as a yellow brown solid (1.16g, 75% chemical yield).

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 8.26 (d, J=9.0Hz, 3H), 7.92 (d, J=2.7Hz, 3H), 7.56 (dd, J=9.0Hz and 2.7Hz, 3H), 4.118 (s, 9H)

MS (CI): *m/z* 576.2 ([M+H]⁺, 100%), 574.2 (95.8%)

MP 260°C (decomposition)

UV-vis (CHCl₃) λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹cm⁻¹): 296 (64200), 318 (80000), 378 (21400), 395 (16450)

6,12,18-trichloro-2,8,14-propyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene 7d

N,N,N-(2-hydroxycarbonyl-4-propyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6d** (1.03g, 1.5mmol, 1.0equiv.) is dried under vacuum at 110°C for 4hrs and POCl₃ (25mL, large excess) is added. The solution is stirred at reflux under nitrogen for 72hrs. After evaporation to dryness, the residue is dissolved in DCM (120mL) and slowly poured onto 60mL of an ice-cooled 15% NH₄OH. The biphasic mixture is separated and the organic layer is dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is filtered on silica gel (eluent DCM) to afford 6,12,18-trichloro-2,8,14-propyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **7d** as a pale yellow solid (499.0mg, 49% chemical yield).

Rf (DCM): 0.475

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 8.1 (d, J=9.3Hz, 3H), 7.75 (d, J=2.7Hz, 3H), 7.42 (dd, J=9.3Hz and 2.7Hz, 3H), 4.11 (t, J=6.6Hz, 6H), 1.89 (sext, J=6.9Hz, 6H), 1.076 (t, J=7.5Hz, 9H)

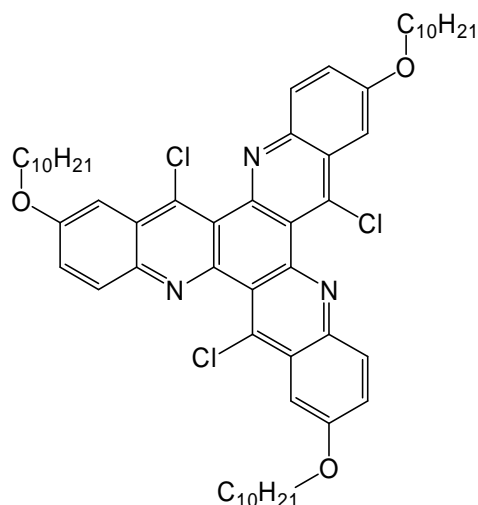
¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 159.4, 146.8, 142.9, 139.6, 131.7, 128.8, 124.8, 122.7, 103.7, 70.4, 22.9, 11.0

MS (CI): *m/z* 658.2 ([M+H]⁺, 100%), 660.3 (87%)

MP 128-132°C

Elemental analysis calcd for: C₃₆H₃₀Cl₃N₃O₃: C 65.61%, H 4.59%, N 6.38% Found: C 65.79%, H 4.32%, N 6.41%

UV-vis (CHCl₃) λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹cm⁻¹): 296 (64250), 318 (80000), 378 (21440), 395 (16440)

6,12,18-trichloro-2,8,14-decyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene 7e

N,N,N-(2-hydroxycarbonyl-4-decyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6e** (485.0mg, 0.5mmol, 1.0equiv.) is dried under vacuum at 110°C for 4hrs and POCl₃ (15mL, large excess) is added. The solution is stirred at reflux under nitrogen for 72hrs. After evaporation to dryness, the residue is dissolved in DCM (130mL) and slowly poured onto 60mL of an ice-cooled 15% NH₄OH. The biphasic mixture is separated and the organic layer is dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is filtered on silica gel (eluent DCM) to afford 6,12,18-trichloro-2,8,14-decyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **7e** as a pale yellow solid (410.0mg, 84% chemical yield).

Rf (DCM): 0.85

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 8.11 (d, J=9.0Hz, 3H), 7.76 (d, J=2.4Hz, 3H), 7.42 (dd, J=9.0Hz and 2.4Hz, 3H), 4.14 (t, J=6.6Hz, 6H), 1.85 (quint, J=6.6Hz, 6H), 1.355 (m, 42H), 0.82 (t, J=6.6Hz, 9H)

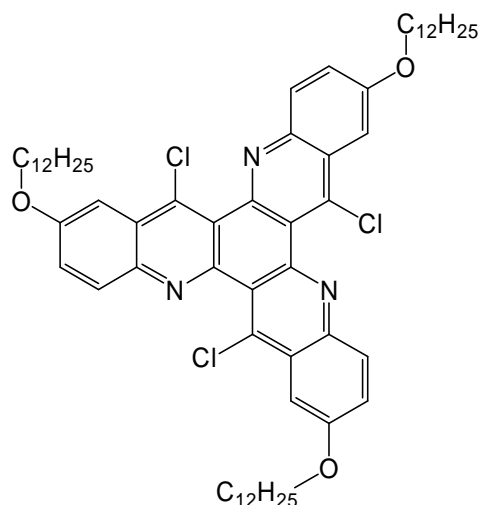
¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 159.3, 146.7, 142.8, 139.5, 131.6, 128.7, 124.6, 122.6, 103.6, 68.9, 32.3, 30.04, 30.02, 29.9, 29.77, 29.60, 26.55, 23.1, 14.5

MS (CI): *m/z* 954.8 ([M+H]⁺, 100%), 952.8 (93.4%)

MP 90-92°C

Elemental analysis calcd for: C₅₇H₇₂Cl₃N₃O₃: C 71.8%, H 7.61%, N 4.41 % Found: C 71.59%, H 7.42%, N 4.54%

UV-vis (CHCl₃) λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹cm⁻¹): 296 (56650), 317 (70600), 376 (19080), 396 (14600)

6,12,18-trichloro-2,8,14-dodecyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene 7f

N,N,N-(2-hydroxycarbonyl-4-dodecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6f** (640.0mg, 0.62mmol, 1.0equiv.) is dried under vacuum at 110°C for 4hrs and POCl₃ (10mL, large excess) is added. The solution is stirred at reflux under nitrogen for 72hrs. After evaporation to dryness, the residue is dissolved in DCM (50mL) and slowly poured onto 30mL of an ice-cooled 15% NH₄OH. The biphasic mixture is separated and the organic layer is dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is filtered on silica (eluent DCM) to afford 6,12,18-trichloro-2,8,14-dodecyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **7f** as a pale yellow solid (530.0mg, 82.4% chemical yield).

Rf (DCM): 1

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 8.24 (d, J=9.0Hz, 3H), 7.89 (d, J=2.7Hz, 3H), 7.55 (dd, J=9.0Hz and 2.7Hz, 3H), 4.26 (t, J=6.6Hz, 6H), 1.97 (t, J=6.6Hz, 6H), 1.45 (m, 54H), 0.92 (t, J=6.6Hz, 9H)

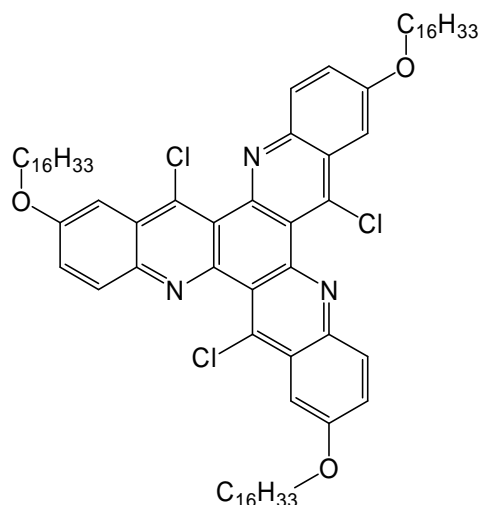
¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 159.5, 146.9, 143.0, 139.7, 131.9, 128.9, 125.0, 122.9, 103.8, 69.0, 32.3, 30.0 (2C), 29.84 (2C), 29.76 (2C), 29.53, 26.5, 23.1, 14.5

MS (API): *m/z* 1039.0 ([M+H]⁺, 100%)

MP 103-106°C

Elemental analysis calcd for: C₆₃H₈₄Cl₃N₃O₃: C 72.92%, H 8.16%, N 4.05% Found: C 71.71%, H 8.25%, N 3.85%

UV-vis (CHCl₃) λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹cm⁻¹): 296 (49400), 317 (61170), 378 (17000), 396 (12950)

6,12,18-trichloro-2,8,14-hexadecyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene 7g

N,N,N-(2-hydroxycarbonyl-4-hexadecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6g** (1.05g, 0.83mmol, 1.0equiv.) is dried under vacuum at 110°C for 4hrs and POCl₃ (15mL, large excess) is added. The solution is stirred at reflux under nitrogen for 72hrs. After evaporation to dryness, the residue is dissolved in DCM (120mL) and slowly poured onto 60mL of an ice-cooled 15% NH₄OH. The biphasic mixture is filtered, separated and the organic layer is dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is filtered on silica gel (eluent DCM) to afford 6,12,18-trichloro-2,8,14-hexadecyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **7g** as a pale yellow solid (361.0mg, 34% chemical yield).

Rf (DCM):1

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 8.12 (d, J=9.0Hz, 3H), 7.78 (d, J=2.4Hz, 3H), 7.43 (dd, J=9.0Hz and J=2.4Hz, 3H), 4.15 (t, J=6.6Hz, 6H), 1.85 (quint, J=6.6Hz, 6H), 1.44 (m, 6H), 1.26 (m, 72H), 0.80 (t, J=6.6Hz, 9H)

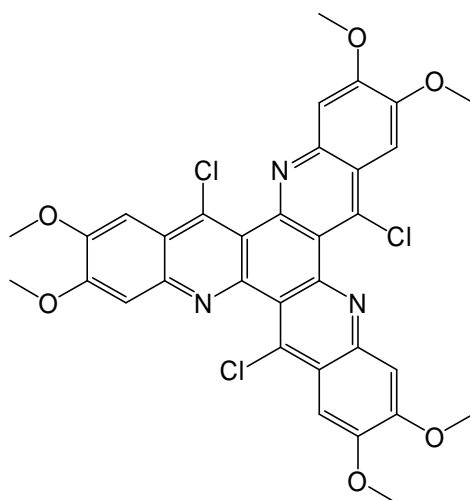
¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 159.5, 146.9, 143.0, 139.6, 131.7, 128.9, 124.95, 122.9, 103.8, 69.0, 32.3, 30.1 (7C), 30.02, 29.86, 29.77, 29.55, 26.5, 23.1, 14.5

MS (EI⁺): *m/z* 1205.6 ([M]⁺, 100%), 1169.6 ([M-Cl]⁺, 65%), 1135.6 ([M-2Cl]⁺, 36.5%), 1101.7 ([M-3Cl]⁺, 95.2%), 980.3 ([M-C₁₆H₃₃]⁺, 68.2%)

MP 83-87°C

Elemental analysis Calcd for: C₇₅H₁₀₈Cl₃N₃O₃: C 74.69%, H 9.03%, N 3.48%, Found: C 74.61%, H 9.11%, N 3.51%

UV-vis (CHCl₃) λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹cm⁻¹): 296 (63700), 317 (80100), 379 (21900), 396 (16800)

6,12,18-trichloro-2,3,8,9,14,15-hexamethoxy-5,11,17-triazatrinaphthylene 7h

N,N,N-(2-hydroxycarbonyl-4,5-dimethoxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6h** (270.0mg, 0.40mmol, 1.0equiv.) is dried under vacuum at 110°C for 4hrs and POCl₃ (12mL, large excess) is added. The solution is stirred at reflux under nitrogen for 72hrs. After evaporation to dryness, the residue is dissolved in DCM (200mL) and slowly poured onto 120mL of an ice-cooled 15% NH₄OH. The biphasic mixture is filtered, separated and the organic layer is dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to afford 6,12,18-trichloro-2,3,8,9,14,15-hexamethoxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **7h** as a pale brown solid (78.4mg, 30% chemical yield).

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.77 (s, 3H), 7.49 (s, 3H), 4.17 (s, 18H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 153.8, 151.3, 147.2, 143.7, 138.6, 122.9, 120.4, 107.7, 102.9, 56.4, 56.3

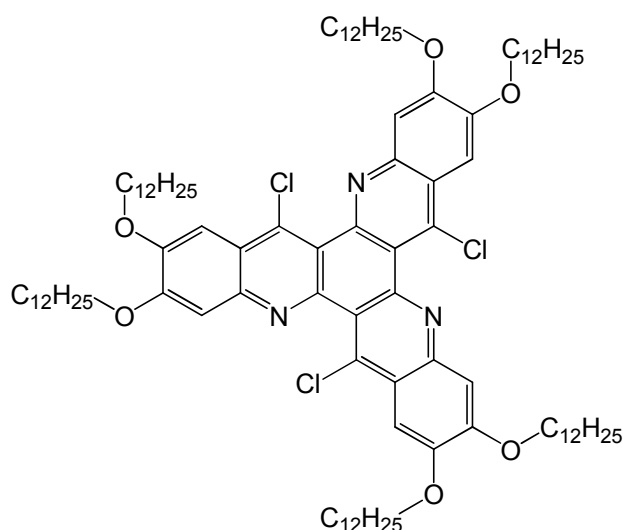
MS (CI⁺): *m/z* 664 ([M+H]⁺, 97%), 666 (100%)

MS(MALDI) 664.06 ([M+H]⁺, 100%), 630.10 ([M+H-Cl]⁺, 73.5%), 596.14 ([M+H-2Cl]⁺, 43%)

MP >360°C

HRMS: Ionisation: MALDI Calcd for: C₃₃H₂₅Cl₃N₃O₆ 664.08034 Found: 664.08222

UV-vis (CHCl₃) λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹cm⁻¹): 327 (65590), 378 (24260), 395 (23840)

6,12,18-trichloro-2,3,8,9,14,15-hexadodecyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene 7i

N,N,N-(2-hydroxycarbonyl-4,5-didodecyloxy-phenyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6i** (580.0mg, 0.36mmol, 1.0equiv.) is dried under vacuum at 100°C for 3hrs and POCl₃ (10mL, large excess) is added. The solution is stirred at reflux under nitrogen for 4 days. After evaporation to dryness, the residue is dissolved in DCM (80mL) and slowly poured onto 60mL of an ice-cooled 15% NH₄OH. The biphasic mixture is separated and the organic layer is dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is filtered on silica gel (eluent DCM), the desired fractions are concentrated under reduced pressure and the residue is taken up in MeOH. The resulting precipitate is filtered and dried to afford 6,12,18-trichloro-2,3,8,9,14,15-hexadodecyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **7i** as a white solid (285.0mg, 49% chemical yield).

Rf (DCM):1

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 7.75 (s, 3H), 7.45 (s, 3H), 4.23 (m, 12H), 1.97 (m, 12H), 1.56 (m, 12H), 1.29 (m, 96H), 0.89 (m, 18H)

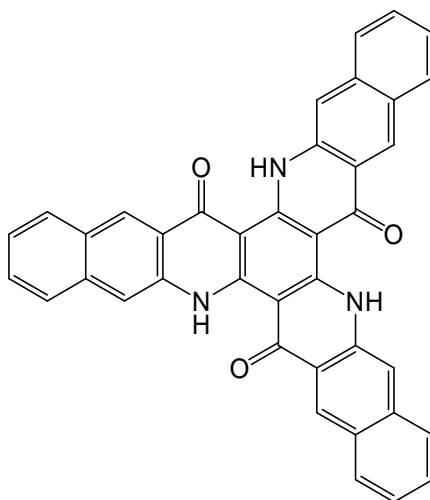
¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 153.8, 151.25, 147.2, 143.8, 138.5, 122.9, 120.5, 108.4, 104.0, 69.25 (2C), 32.1 (2C), 29.9 (2C), 29.84 (8C), 29.66, 29.62, 29.55 (2C), 29.16, 26.25, 22.85 (2C), 14.3 (2C)

MS (ES⁺): m/z 1591.8 ([M+H]⁺, 100%)

MP 80-89°C

Elemental analysis calcd for: C₉₉H₁₅₆Cl₃N₃O₆: C 74.75%, H 9.89%, Cl 6.69%, N 2.64%,
Found: C 74.83%, H 9.91%, Cl 6.45%, N 2.62%

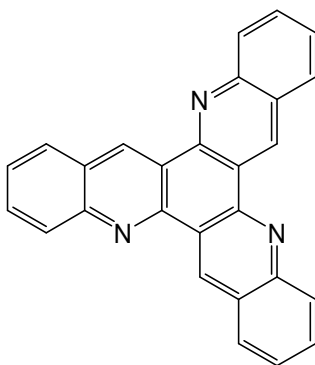
UV-vis (CHCl₃) λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹cm⁻¹): 330 (92920), 382 (36880), 399 (37160)

6,12,18-trione-5,11,17-dihydrotriazatrinaphthylene 7j

N,N,N-(2-hydroxycarbonylnaphthyl)-1,3,5-phenylenetriamine **6j** (870.0mg, 1.4mmol, 1.0equiv.) is dried under vacuum at 110°C for 4hrs and POCl₃ (15mL, large excess) is added. The solution is stirred at reflux under nitrogen for 4 days. After evaporation to dryness, the residue is dissolved in DCM (120mL) and slowly poured onto 80mL of an ice-cooled 15% NH₄OH. The biphasic mixture is filtered, the retained solid is washed with DCM and acetone and dried with Et₂O to give 6,12,18-trione-5,11,17-dihydrotriazatrinaphthylene **7j** as a dark green solid (284.0mg, 35 % chemical yield).

MS (CI⁺): *m/z* 580.3 ([M+H]⁺, 100%)

MP >260°C

5,11,17-triazatrinaphthylene 8a

To a suspension of 6,12,18-trichloro-5,11,17-triazatrinaphthylene **7a** (217.0mg, 0.45mmol, 1.0equiv.) in THF (25mL) is added LiAlH_4 in small portions (630.0mg, 16.6mmol, 36.0equiv.). After refluxing overnight, the mixture is cooled to 0°C and 0.8mL H_2O and EtOH are added successively. After stirring for 20min the mixture is filtered and the solid residue washed with CHCl_3 until discoloration. The filtrate, containing **8a** along with hemi-reduced products, is concentrated under reduced pressure. The residue is suspended in EtOH (40mL); a solution of $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (820mg, 3.0mmol, 6.0equiv.) in H_2O (20mL) is added and the mixture is heated to reflux overnight. After cooling to RT, NH_4OH 15% (1.5mL) is added and the suspension is filtered on celite. The precipitate is washed with DCM, the biphasic filtrate is separated and further extracted with DCM. After drying over Na_2SO_4 and evaporation, the residue is taken up in a mixture of DCM/MeOH (1/3). The formed precipitate is filtered and dried, yielding **8a** as an orange solid (42.0mg, 24% chemical yield).

Rf (DCM): 0.77

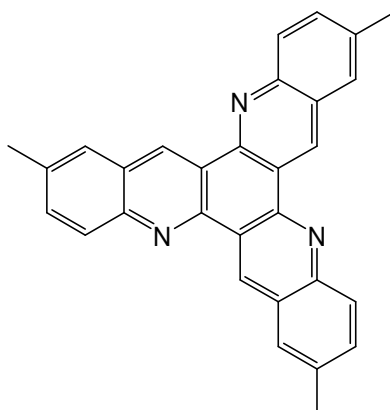
$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ (ppm). 10.15 (s, 3H), 8.4 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 3H), 8.25 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 3H), 7.93 (td, $J=7.65\text{Hz}$ and 1.5Hz , 3H), 7.71 (td, $J=7.35\text{Hz}$ and $J=0.9\text{Hz}$, 3H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, CDCl_3): δ (ppm). 148.9, 134.3, 130.9, 129.4, 129.0, 128.0, 126.8, 125.1, (2 isochronous carbons)

MS (CI^+): m/z 382 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100%)

MP $>360^\circ\text{C}$

UV-vis (CHCl_3) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon_{\text{max}}/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 283 (80300), 294 (93900), 346 (11350), 363 (16600), 380 (16850)

2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **8b**

To a suspension of 6,12,18-trichloro-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **7b** (1.10g, 2.0mmol, 1.0equiv.) in THF (190mL) is added LiAlH_4 in small portions (2.70g, 72.0mmol, 36.0equiv.). After refluxing overnight, the mixture is cooled to 0°C and 6.5mL H_2O and EtOH are added successively. After stirring for 20min the mixture is filtered and the solid residue washed with CHCl_3 until discoloration. The filtrate, containing **8b** along with hemi-reduced products, is concentrated under reduced pressure. The residue is suspended in EtOH (250mL); a solution of $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (3.2g, 12mmol, 6.0equiv.) in H_2O (125mL) is added and the mixture is heated to reflux overnight. After cooling to RT, NH_4OH 15% (10mL) is added and the suspension is filtered on celite. The precipitate is washed with DCM, the filtrate is separated and further extracted with DCM. After drying over Na_2SO_4 and evaporation, the residue is taken up in a mixture of DCM/MeOH (1/3). The formed precipitate is filtered and dried, yielding **8b** as an orange solid (240.0mg, 28% chemical yield).

Rf (DCM):0.56

^1H -NMR (300MHz, CDCl_3): δ (ppm). 9.96 (s, 3H), 8.25 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 3H), 7.95 (s, 3H), 7.71 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 3H), 2.67 (s, 9H)

^{13}C -NMR (75MHz, CDCl_3): δ (ppm). 147.9, 137.0, 133.6, 133.5, 129.4, 128.4, 128.0, 125.5, 22.2, (2 isochronous carbons)

MS (CI⁺): m/z 424 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100%)

MS (TOF ES⁺)(MeOH/DMSO): 424.2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100%)

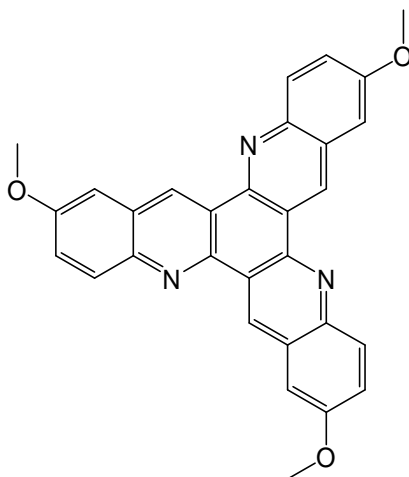
MS (TOF ES⁺)(MeOH/DCM): 424.2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100%)

MP $>260^\circ\text{C}$

HRMS: (MeOH+DCM) Ionisation: TOF ES⁺ Calcd for: $\text{C}_{30}\text{H}_{22}\text{N}_3$ 424.1814 Found: 424.1809

UV-vis (CHCl₃) λ_{max} /nm (ϵ_{max} /M⁻¹cm⁻¹): 288 (86560), 298 (101100), 333 (20850), 350 (12820), 368 (18240), 385 (18480)

2,8,14-trimethoxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **8c**



To a suspension of 6,12,18-trichloro-2,8,14-trimethoxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **7c** (1.16g, 2.0mmol, 1.0equiv.) in THF (120mL) is added LiAlH₄ in small portions (2.80g, 73.8mmol, 36.0equiv.). After refluxing overnight, the mixture is cooled to 0°C and 4.1mL H₂O and EtOH are added successively. After stirring for 20min the mixture is filtered and the solid residue washed with CHCl₃ until discoloration. The filtrate, containing **8c** along with hemi-reduced products, is concentrated under reduced pressure. The residue is suspended in EtOH (160mL); a solution of FeCl₃·6H₂O (3.30g, 12.2mmol, 6.0equiv.) in H₂O (80mL) is added and the mixture is heated to reflux overnight. After cooling to RT, NH₄OH 15% is added and the suspension is filtered on celite. The precipitate is washed with DCM, the filtrate is separated and further extracted with DCM. After drying over Na₂SO₄ and evaporation, the residue is taken up in a mixture of DCM/MeOH (1/3). The formed precipitate is filtered, washed with heptane and dried with Et₂O, yielding 2,8,14-trimethoxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **8c** as an orange brown solid (177.0mg, 19% chemical yield).

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 9.94 (s, 3H), 8.26 (d, J=9.0Hz, 3H), 7.55 (dd, J=9.0Hz and 2.7Hz, 3H), 7.44 (d, J=2.7Hz, 3H), 4.08 (s, 9H)

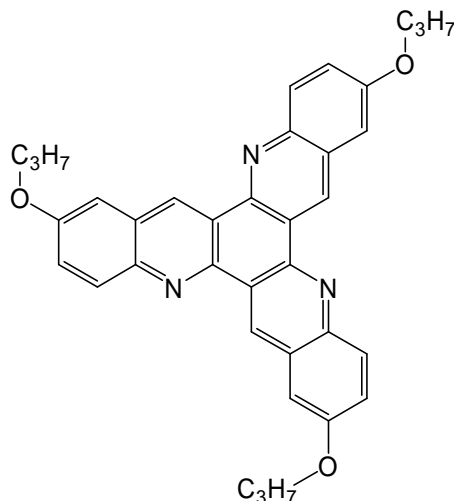
¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 157.0, 146.4, 145.1, 131.8, 130.9, 129.2, 125.4, 124.5, 106.0, 55.9

MS (CI⁺): m/z 472.3 ([M+H]⁺, 100%), 488.3 ([M+NH₃]⁺, 8%)

MP >260°C

UV-vis (CHCl₃) λ_{max} /nm (ϵ_{max} /M⁻¹cm⁻¹): 293 (63700), 308 (78000), 375 (20000), 395 (21800)

2,8,14-propyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **8d**



To a suspension of 6,12,18-trichloro-2,8,14-propyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **7d** (395.0mg, 0.60mmol, 1.0equiv.) in THF (40mL) is added LiAlH₄ in small portions (840.0mg, 22.0mmol, 36.0equiv.). After refluxing overnight, the mixture is cooled to 0°C and 2.0mL H₂O and EtOH are added successively. After stirring for 20min the mixture is filtered and the solid residue washed with CHCl₃ until discoloration. The filtrate, containing **8d** along with hemi-reduced products, is concentrated under reduced pressure. The residue is suspended in EtOH (50mL); a solution of FeCl₃·6H₂O (1.50g, 5.4mmol, 9.0equiv.) in H₂O (25mL) is added and the mixture is heated to reflux overnight. After cooling to RT, NH₄OH 15% (3.0mL) is added and the suspension is filtered on celite. The precipitate is washed with DCM, the filtrate is separated and further extracted with DCM. After drying over MgSO₄ and evaporation, the residue is purified by column chromatography on silica gel (residue pre-adsorbed on silica, eluent DCM) to afford 2,8,14-propyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **8d** as a pale yellow solid (149.5mg, 45% chemical yield).

Rf (DCM): 0.1

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 9.54 (s, 3H), 7.99 (d, J=9.3Hz, 3H), 7.34 (d, J=7.8Hz, 3H), 7.15 (s, 3H), 4.0 (t, J=6.3Hz, 6H), 1.87 (m, 6H), 1.08 (t, J=7.2Hz, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 157.1, 146.6, 145.3, 132.0, 131.0, 129.4, 125.7, 124.8, 106.3, 70.3, 22.95, 11.0

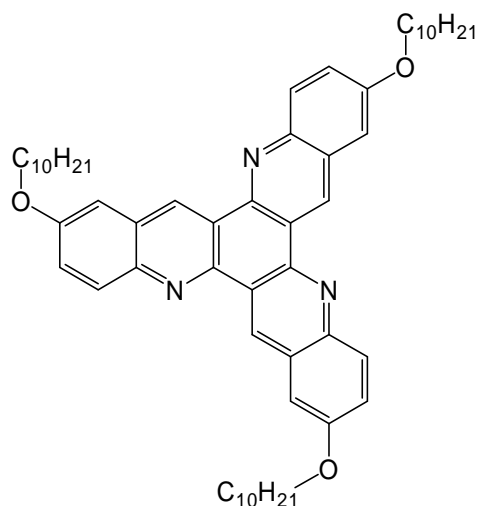
MS (CI): m/z 556.3 ([M+H]⁺, 100%)

MP 179-182°C

Elemental analysis: Calcd for: C₃₆H₃₃N₃O₃: C 77.81%, H 5.99%, N 7.56%, Found: C 77.74%, H 6.03%, N 7.41%

UV-vis (CHCl₃) λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹cm⁻¹): 292 (69500), 308 (85700), 375 (21700), 395 (23780)

2,8,14-decyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **8e**



To a suspension of 6,12,18-trichloro-2,8,14-decyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **7e** (350.0mg, 0.37mmol, 1.0equiv.) in THF (35mL) is added LiAlH₄ in small portions (505.0mg, 13.3mmol, 36.0equiv.). After refluxing overnight, the mixture is cooled to 0°C and 2.0mL H₂O and EtOH are added successively. After stirring for 20min the mixture is filtered and the solid residue washed with CHCl₃ until discoloration. The filtrate, containing **8e** along with hemi-reduced products, is concentrated under reduced pressure. The residue is suspended in EtOH (40mL); a solution of FeCl₃·6H₂O (900.0mg, 3.30mmol, 9.0equiv.) in H₂O (20mL) is added and the mixture is heated to reflux overnight. After cooling to RT, NH₄OH 15% (2.5mL) is added and the suspension is filtered on celite. The precipitate is washed with DCM, the filtrate is separated and further extracted with DCM. After drying over MgSO₄ and evaporation, the residue is purified by column chromatography on silica gel (residue pre-adsorbed on silica, eluent DCM) to afford 2,8,14-decyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **8e** as a yellow foam (125.0mg, 40% chemical yield).

Rf (DCM): 0.38

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ (ppm). 8.87 (s, 3H), 7.61 (d, $J=9.0\text{Hz}$, 3H), 7.05 (dd, $J=9.0\text{Hz}$ and 2.4Hz , 3H), 6.66 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 3H), 3.78 (t, $J=6.6\text{Hz}$, 6H), 1.75 (quint, $J=6.6\text{Hz}$, 6H), 1.30 (m, 42H), 0.86 (t, $J=6.6\text{Hz}$, 9H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, CDCl_3): δ (ppm). 157.0, 145.7, 144.5, 131.1, 130.5, 128.6, 124.75, 123.8, 105.7, 68.45, 32.4, 30.15, 30.12, 30.07, 29.85, 29.73, 26.6, 23.2, 14.6

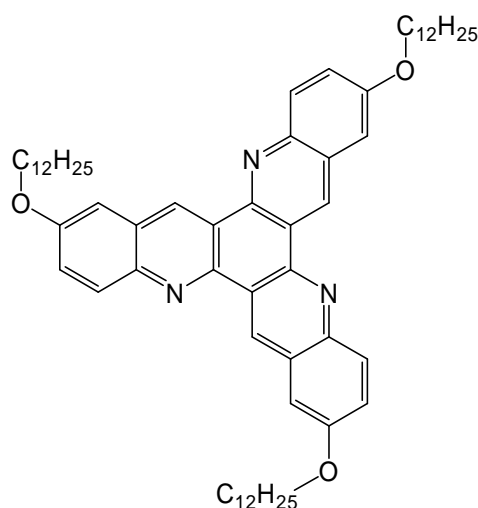
MS (CI): m/z 850.9 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100%)

MP 104-106°C

Elemental analysis Calcd for: $\text{C}_{57}\text{H}_{75}\text{N}_3\text{O}_3$: C 80.52%, H 8.89%, N 4.94% Found: C 80.41%, H 8.83%, N 4.85%

UV-vis (CHCl_3) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon_{\text{max}}/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 293 (63780), 308 (78200), 375 (19900), 395 (21890)

2,8,14-dodecyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **8f**



To a suspension of 6,12,18-trichloro-2,8,14-dodecyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **7f** (530.0mg, 0.5mmol, 1.0equiv.) in THF (35mL) is added LiAlH_4 in small portions (725.0mg, 19.1mmol, 36equiv.). After refluxing overnight, the mixture is cooled to 0°C and 1.0mL H_2O and EtOH are added successively. After stirring for 20min the mixture is filtered and the solid residue washed with CHCl_3 until discoloration. The filtrate, containing **8f** along with hemi-reduced products, is concentrated under reduced pressure. The residue is suspended in EtOH (40mL); a solution of $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1.25g, 4.64mmol, 9.0equiv.) in H_2O (20mL) is added and the mixture is heated to reflux overnight. After cooling to RT, NH_4OH 15% (2.2mL) is added and the suspension is filtered on celite. The precipitate is washed with DCM, the filtrate is separated and further extracted with DCM. After drying over Na_2SO_4 and evaporation, the

residue is purified by column chromatography on silica gel (residue pre-adsorbed on silica, eluent DCM) to afford 2,8,14-dodecyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **8f** as a yellow oily solid (133.0mg, 28.5% chemical yield).

Rf (DCM): 0.37

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ(ppm). 9.02 (s, 3H), 7.76 (d, J=9.0Hz, 3H), 7.19 (dd, J=9.0Hz and 2.4Hz, 3H), 6.80 (d, J=2.4Hz, 3H), 3.92 (t, J=6.6Hz, 6H), 1.89 (t, J=6.9Hz, 6H), 1.46 (m, 54H), 0.96 (t, J=6.6Hz, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ(ppm). 156.7, 145.4, 144.2, 130.8, 130.2, 128.3, 124.45, 123.5, 105.4, 68.1, 32.03, 29.84 (2C), 29.79 (2C), 29.71, 29.48, 29.37, 26.25, 22.8, 14.2

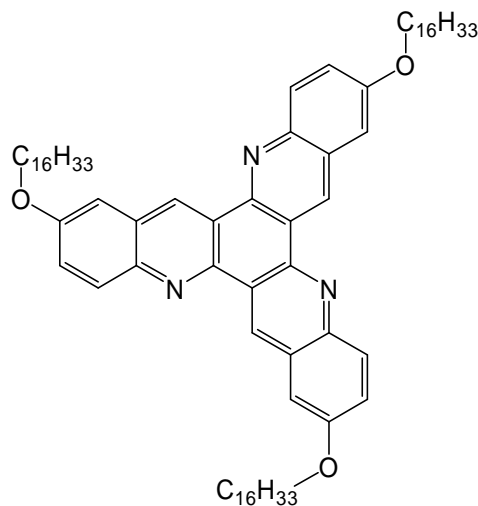
MS (APCI): *m/z* 934.9 ([M+H]⁺, 100%)

MP 84-89°C

Elemental analysis Calcd for: C₆₃H₈₇N₃O₃: C 80.98%, H 9.38%, N 4.50% Found: C 80.97%, H 9.38%, N 4.41%

UV-vis (CHCl₃) λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹cm⁻¹): 293 (66000), 308 (81700), 375 (20850), 395 (22800)

2,8,14-hexadecyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **8g**



To a suspension of 6,12,18-trichloro-2,8,14-hexadecyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **7g** (287.0mg, 0.24mmol, 1.0equiv.) in THF (20mL) is added LiAlH₄ in small portions (328.0mg, 8.6mmol, 36.0equiv.). After refluxing overnight, the mixture is cooled to 0°C and 1.5mL H₂O and EtOH are added successively. After stirring for 20min the mixture is filtered and the solid residue washed with CHCl₃ until discoloration. The filtrate, containing **8g** along with hemi-reduced products, is concentrated under reduced pressure. The residue is suspended in EtOH

(20mL); a solution of $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (584.0mg, 2.2mmol, 9.0equiv.) in H_2O (10mL) is added and the mixture is heated to reflux overnight. After cooling to RT, NH_4OH 15% (1.3mL) is added and the suspension is filtered on celite. The precipitate is washed with DCM, the filtrate is separated and further extracted with DCM. After drying over MgSO_4 and evaporation, the residue is purified by column chromatography on silica gel (residue pre-adsorbed on silica, eluent DCM) to afford 2,8,14-hexadecyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **8g** as a white solid (140.0mg, 53% chemical yield).

Rf (DCM): 0.43

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ (ppm). 9.37 (s, 3H), 7.91 (d, $J=9.3\text{Hz}$, 3H), 7.27 (dd, $J=9.3\text{Hz}$ and 2.4Hz , 3H), 7.02 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 3H), 3.97 (t, $J=6.3\text{Hz}$, 6H), 1.83 (quint, $J=6.6\text{Hz}$, 6H), 1.48 (m, 6H), 1.25 (m, 72H), 0.80 (t, $J=6.6\text{Hz}$, 9H)

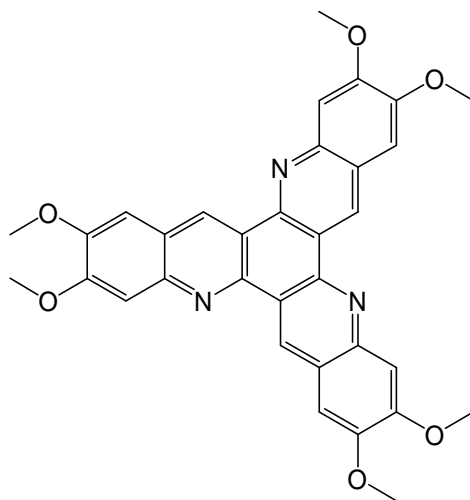
$^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, CDCl_3): δ (ppm). 156.1, 144.8, 143.6, 130.3, 129.4, 127.7, 123.9, 123.0, 104.7, 67.3, 30.9, 28.73 (7C), 28.68, 28.56, 28.37, 28.27, 25.2, 21.7, 13.1

MS (EI^+): m/z 1101.7 ($[\text{M}]^+$, 100%), 876.4 ($[\text{M}-\text{C}_{16}\text{H}_{33}]^+$, 32.3%)

MP 55-65°C

UV-vis (CHCl_3) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon_{\text{max}}/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 294 (61400), 308 (76700), 375 (19600), 395 (21500)

2,3,8,9,14,15-hexamethoxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **8h**



To a suspension of 6,12,18-trichloro-2,3,8,9,14,15-hexamethoxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **7h** (94.0mg, 0.14mmol, 1.0equiv.) in THF (25mL) is added LiAlH_4 in small portions (86.0mg, 2.3mmol, 16.0equiv.). After refluxing overnight, the mixture is cooled to 0°C and 0.3mL H_2O and EtOH are added successively. After stirring for 20min the mixture is filtered

and the solid residue washed with CHCl_3 until discoloration. The filtrate, containing **8h** along with hemi-reduced products, is concentrated under reduced pressure. The residue is dried under vacuum at 60°C for 2hrs, diluted in acetic acid (6mL), $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C}^+ \text{BF}_4^-$ (86.0mg, 0.26mmol, 2.5equiv.) is added in one portion and the solution is heated to reflux under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, the mixture is poured in water and a 30% NaOH solution is added until pH 5. The resulting suspension is extracted with CHCl_3 , the organic phase is washed with water, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is thoroughly washed with heptane and filtered. The resulting solid is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM/MeOH 95/5) to afford the corresponding 5,11,17-triazatrinaphthylene derivative **8h** as a pale brown powder (20.0mg, 25% chemical yield).

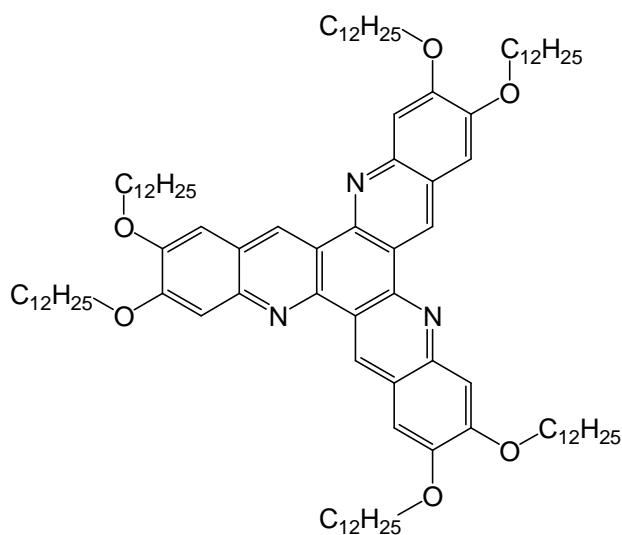
$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): $\delta(\text{ppm})$. 9.54 (s, 3H), 7.45 (s, 3H), 7.19 (s, 3H), 4.14 (s, 9H), 4.09 (s, 9H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, CDCl_3): $\delta(\text{ppm})$. 153.5, 149.8, 146.3, 145.8, 130.7, 123.4, 123.0, 107.2, 105.4, 56.15, 56.0

MS (CI⁺): m/z 562 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100%)

MP $>260^\circ\text{C}$

2,3,8,9,14,15-hexadodecyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **8i**



To a suspension of 6,12,18-trichloro-2,3,8,9,14,15-hexadodecyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **7i** (466.0mg, 0.29mmol, 1.0equiv.) in THF (25mL) is added LiAlH_4 in small portions (178.0mg, 4.69mmol, 16equiv.). After refluxing overnight, the mixture is

cooled to 0°C and 0.6mL H₂O and EtOH are added successively. After stirring for 20 min the mixture is filtered and the solid residue washed with CHCl₃ until discoloration. The filtrate, containing **8** along with hemi-reduced products, is concentrated under reduced pressure. The residue is suspended in EtOH (30mL); a solution of FeCl₃·6H₂O (476.0mg, 1.76mmol, 6.0equiv.) in H₂O (15mL) is added and the mixture is heated to reflux overnight. After cooling to RT, NH₄OH 15% (1.1mL) is added and the suspension is filtered on silica. The precipitate is washed with DCM, the filtrate is separated and further extracted with DCM. After drying over MgSO₄ and evaporation, the residue is purified by column chromatography on silica gel (residue pre-adsorbed on silica, eluent DCM) to afford 2,3,8,9,14,15-hexadodecyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **8i** as a white solid (290.0mg, 67% chemical yield).

Rf (DCM): 0.55

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm). 9.57 (s, 3H), 7.45 (s, 3H), 7.19 (s, 3H), 4.22 (t, J=6.0Hz, 6H), 4.13 (t, J=6.0Hz, 6H), 1.97 (m, 12H), 1.57 (m, 12H), 1.30 (m, 96H), 0.89 (t, J=6.0Hz, 18H)

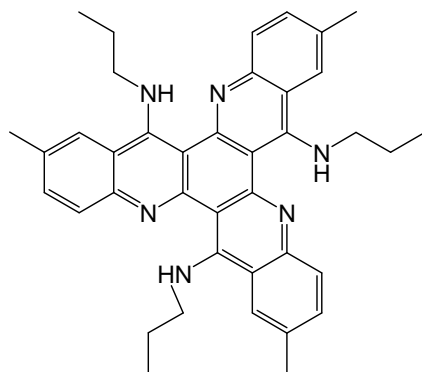
¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm). 153.6, 149.8, 146.5, 146.0, 130.8, 123.6, 123.15, 108.0, 106.6, 69.0 (2C), 32.1 (2C), 29.93 (2C), 29.88 (7C), 29.74, 29.70, 29.57, 29.27, 29.23, 26.3 (2C), 22.9 (2C), 14.3 (2C)

MS (MALDI): *m/z* 1488.21 ([M+H]⁺, 100%), 1319.02 ([M-C₁₂H₂₅]⁺, 15%)

HRMS (MALDI) Calcd for: C₉₉H₁₅₉N₃O₆ 1487.23017 Found: 1487.22587

MP 78-95°C

UV-vis (CHCl₃) λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹cm⁻¹): 320 (84350), 344 (29100), 378 (32860), 400 (47280)

6,12,18-tri-aminopropyl-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **9b**

6,12,18-tri-chloro-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **7b** (38.0mg, 0.072mmol, 1.0 equiv.) is heated to reflux in *n*-propylamine (5mL, large excess) under nitrogen for 70hrs. After cooling to RT, the mixture is evaporated to dryness. The residue is taken up in DCM; the organic phase is washed twice with water, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM/MeOH 8/2) to afford 6,12,18-tri-aminopropyl-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **9b** as an orange powder (17.0mg, 40% chemical yield).

R_f (DCM/MeOH 80/20): 0.7

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 8.05 (s, 3H), 7.75 (d, J=8.4Hz, 3H), 7.41 (dd, J=8.4Hz, 3H), 3.87 (t, J=6.6Hz, 6H), 2.49 (s, 9H), 1.87 (q, J=7.2Hz, 6H), 1.02 (t, J=7.2Hz, 9H)

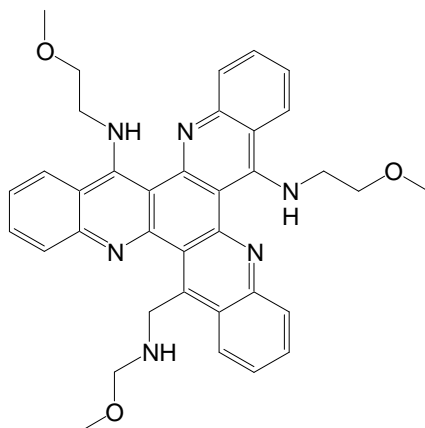
MS (ES⁺): *m/z* 595.4 ([M+H]⁺, 100%), 554.4 ([M-C₃H₆]⁺, 65%)

MS (MALDI): *m/z* 595.36 ([M+H]⁺, 100%)

HRMS: Ionisation: MALDI Calcd for: C₃₉H₄₃N₆ 595.35437 Found: 595.35594

MP ~220°C

UV-vis (CHCl₃) λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹cm⁻¹): 296 (25000), 352 (39200), 394 (22000), 413 (12600)

6,12,18-tri-*N*-(2-methoxyethylamine)-5,11,17-triazatrinaphthylene 10a

6,12,18-tri-chloro-5,11,17-triazatrinaphthylene **7a** (65.0mg, 0.134mmol, 1.0 equiv.) is heated to reflux in 2-methoxyethylamine (2.5mL, large excess) under nitrogen for 70hrs. After cooling to RT, the mixture is evaporated to dryness. The residue is taken up in DCM; the organic phase is washed twice with water, dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM/MeOH 95/5) to afford 6,12,18-tri-*N*-(2-methoxyethylamine)-5,11,17-triazatrinaphthylene **10a** as an orange foam (38.0mg, 47% chemical yield).

Rf (DCM/MeOH 95/5): 0.3

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ (ppm) 8.18 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 3H), 7.95 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 3H), 7.54 (t, $J=6.9\text{Hz}$, 3H), 7.21 (t, $J=6.9\text{Hz}$, 3H), 4.05 (t, $J=5.1\text{Hz}$, 6H), 3.63 (t, $J=5.1\text{Hz}$, 6H), 3.37 (s, 9H)

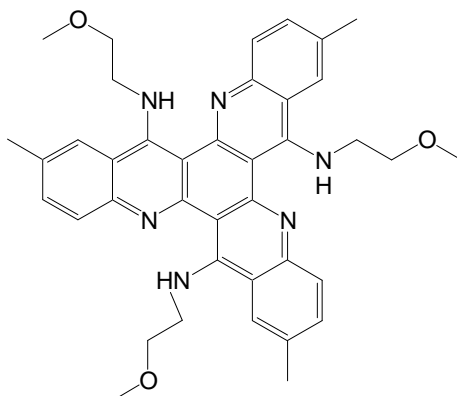
$^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, CDCl_3): δ (ppm) 157.5, 152.7, 147.0, 130.1, 127.9, 126.8, 122.1, 118.7, 106.7, 73.3, 59.3, 50.4

MS (ES^+): m/z 601.2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100%)

HRMS: Ionisation: TOF ES^+ Calcd for: $\text{C}_{36}\text{H}_{37}\text{N}_6\text{O}_3$ 601.2927 Found: 601.2932

MP $<50^\circ\text{C}$

UV-vis (DMSO) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon_{\text{max}}/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 292 (43600), 352 (72100), 392 (44700), 411 (24600)

6,12,18-tri-*N*-(2-methoxyethylamine)-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **10b**

6,12,18-tri-chloro-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **7b** (30.0mg, 0.06mmol, 1.0 equiv.) is heated to reflux in 2-methoxyethylamine (2.0mL, large excess) under nitrogen for 64hrs. After cooling to RT, the mixture is evaporated to dryness. The residue is taken up in DCM; the organic phase is washed twice with water, dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM/MeOH 95/5) to afford 6,12,18-tri-*N*-(2-methoxyethylamine)-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **10b** as an orange glue (19.0mg, 49% chemical yield).

R_f (DCM/MeOH 95/5): 0.3

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 8.05 (s, 3H), 7.92 (d, J=9.0Hz, 3H), 7.47 (d, J=9.0Hz, 3H), 4.06 (m, 6H), 3.7 (t, J=6.0Hz, 6H), 3.43 (s, 9H), 2.55 (s, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm) 155.5, 150.0, 143.3, 131.0, 130.7, 126.1, 124.1, 117.5, 105.6, 71.75, 57.9, 49.2, 21.0

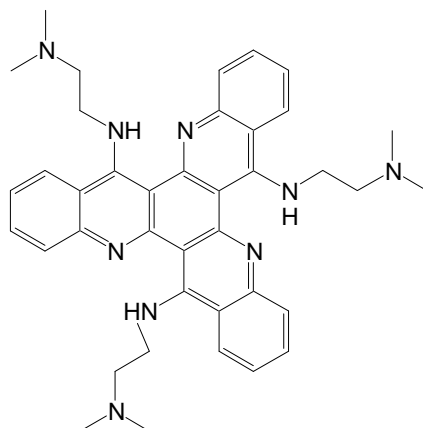
LC/MS 97.3% of purity

MS (ES⁺): *m/z* 643.3 ([M+H]⁺, 100%)

HRMS: Ionisation: TOF ES⁺ Calcd for: C₃₉H₄₃N₆O₃ 643.3397 Found: 643.3394

MP 214-215°C

UV-vis (DMSO) λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹cm⁻¹): 296 (40400), 352 (66500), 391 (36900), 412 (21100)

6,12,18-tri-*N*-(*N*',*N*'-dimethyl-1,2-diaminoethyl)-5,11,17-triazatrinaphthylene **11a**

6,12,18-tri-chloro-5,11,17-triazatrinaphthylene **7a** (60.0mg, 0.12mmol, 1.0equiv.) is heated to reflux in *N,N*-dimethylethyldiamine (8.0mL, large excess) under nitrogen for 30hrs. After cooling to RT, the mixture is evaporated to dryness. The residue is taken up in DCM; the organic phase is washed twice with water, dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM/MeOH 85/15) to afford 6,12,18-tri-*N*-(*N*',*N*'-dimethyl-1,2-diaminoethyl)-5,11,17-triazatrinaphthylene **11a** as an orange powder (39.0mg, 49.3% chemical yield).

R_f (DCM/MeOH 8/2): 0.25

¹H-NMR (300MHz, CDCl_3): δ (ppm) 8.24 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 3H), 8.01 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 3H), 7.56 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 3H), 7.23 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 3H), 4.0 (t, $J=6.3\text{Hz}$, 6H), 2.65 (t, $J=6.3\text{Hz}$, 6H), 2.3 (s, 18H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl_3): δ (ppm) 155.9, 151.2, 145.7, 128.6, 126.5, 125.4, 120.5, 118.3, 117.3, 105.2, 59.2, 47.4, 44.6

LC/MS 91% of purity

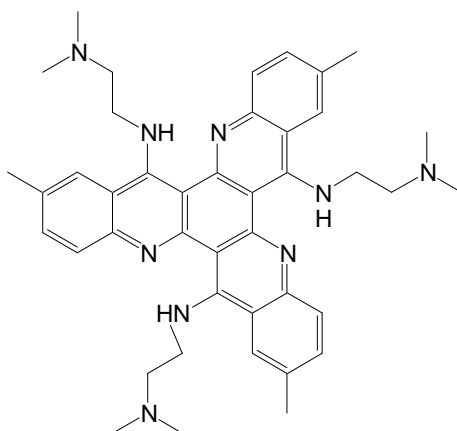
MS (ES⁺): m/z 640.39 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100%), 569.33 (72%)

HRMS: Ionisation: TOF ES⁺ Calcd for: $\text{C}_{39}\text{H}_{46}\text{N}_9$ 640.3876 Found: 640.3860

MP 168-169°C

UV-vis (DMSO) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon_{\text{max}}/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 293 (19700), 354 (32000), 392 (21500), 414 (12000)

6,12,18-tri-*N*-(*N*',*N*'-dimethyl-1,2-diaminoethyl)-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **11b**



6,12,18-tri-chloro-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **7b** (38.0mg, 0.07mmol, 1.0 equiv.) is heated to reflux in *N,N*-dimethylethyldiamine (8.0mL, large excess) under nitrogen for 30hrs. After cooling to RT, the mixture is evaporated to dryness. The residue is taken up in DCM; the organic phase is washed twice with water, dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM/MeOH 85/15) to afford 6,12,18-tri-*N*-(*N*',*N*'-dimethyl-1,2-diaminoethyl)-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **11b** as a yellow powder (31.0mg, 63% chemical yield).

Rf (DCM/MeOH 8/2): 0.3

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ (ppm) 8.01 (s, 3H), 7.92 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 3H), 7.42 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 3H), 3.98 (t, $J=6.0\text{Hz}$, 6H), 2.66 (t, $J=6.0\text{Hz}$, 6H), 2.55 (s, 9H), 2.30 (s, 18H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, CDCl_3): δ (ppm) 156.95, 152.0, 145.4, 132.1, 131.7, 127.8, 125.7, 118.95, 107.3, 60.65, 48.85, 45.9, 22.4

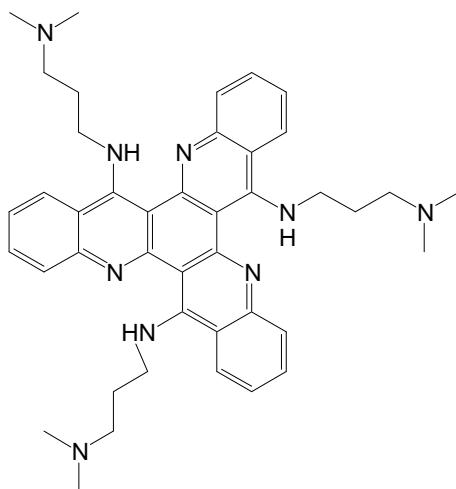
LC/MS 97.9% of purity

MS (ES⁺): m/z 682.4 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100%), 611.3 (fragmentation $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_9\text{N}]^+$, 52%)

HRMS: Ionisation: TOF ES⁺ Calcd for: $\text{C}_{42}\text{H}_{52}\text{N}_9$ 682.4346 Found: 682.4348

MP 171°C

UV-vis (DMSO) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon_{\text{max}}/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 296 (32100), 354 (49100), 392 (29700), 417 (16000)

6,12,18-tri-*N*-(*N*',*N*'-dimethyl-1,2-diaminopropyl)-5,11,17-triazatrinaphthylene **12a**

6,12,18-tri-chloro-5,11,17-triazatrinaphthylene **7a** (62.0mg, 0.13mmol, 1.0 equiv.) is heated to reflux in *N,N*-dimethylpropyldiamine (3.0mL, large excess) under nitrogen for 96hrs. After cooling to RT, the mixture is evaporated to dryness. The residue is taken up in DCM; the organic phase is washed twice with water, dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM/MeOH/ NH_4OH 15% 80/18/2) to afford 6,12,18-tri-*N*-(*N*',*N*'-dimethyl-1,3-diaminopropyl)-5,11,17-triazatrinaphthylene **12a** as a brown powder (48.0mg, 55% chemical yield).

Rf (DCM/MeOH/ NH_4OH 28% 80/17.5/2.5): 0.8

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ (ppm) 8.22 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 3H), 7.75 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 3H), 7.52 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H), 7.19 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H), 3.90 (t, $J=6.9\text{Hz}$, 6H), 2.36 (t, $J=6.9\text{Hz}$, 6H), 2.1 (s, 18H), 2.01 (t, $J=6.9\text{Hz}$, 6H)

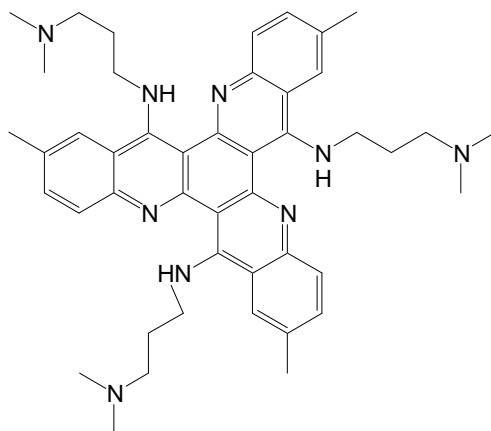
$^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, CDCl_3): δ (ppm) 157.1, 152.4, 146.5, 130.3, 127.0, 126.8, 122.0, 118.5, 105.9, 57.4, 48.8, 45.3, 29.8

MS (ES $^+$): m/z 682.4 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100%), 597.3 (fragmentation $[\text{M}+\text{H}^+-\text{C}_5\text{H}_{11}\text{N}]$, 30%)

HRMS: Ionisation: TOF ES $^+$ Calcd for: $\text{C}_{42}\text{H}_{52}\text{N}_9$ 682.4346 Found: 682.4344

UV-vis (DMSO) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon_{\text{max}}/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 291 (29700), 352 (42200), 392 (27300), 412 (16200)

6,12,18-tri-*N*-(*N*',*N*'-dimethyl-1,2-diaminopropyl)-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **12b**



6,12,18-tri-chloro-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **7b** (38.8mg, 0.07mmol, 1.0 equiv.) is heated to reflux in *N,N*-dimethylpropyldiamine (2.0mL, large excess) under nitrogen for 96hrs. After cooling to RT, the mixture is evaporated to dryness. The residue is taken up in DCM; the organic phase is washed twice with water, dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM/MeOH/ NH_4OH 15% 80/18/2) to afford 6,12,18-tri-*N*-(*N*',*N*'-dimethyl-1,3-diaminopropyl)-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **12b** as an orange sticky powder (28.0mg, 52.5% chemical yield).

Rf (DCM/MeOH/ NH_4OH 28% 80/17.5/2.5): 0.8

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ (ppm) 8.02 (s, 3H), 7.75 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 3H), 7.40 (dd, $J=8.4$ and 1.5Hz , 3H), 3.92 (t, $J=6.6\text{Hz}$, 6H), 2.47 (s, 9H), 2.38 (t, $J=6.9\text{Hz}$, 6H), 2.09 (s, 18H), 2.01 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 6H)

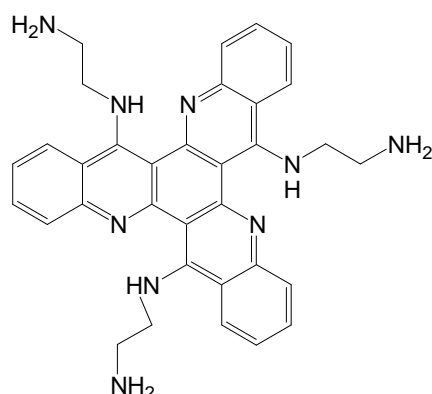
$^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, CDCl_3): δ (ppm) 154.9, 149.9, 142.9, 130.1, 129.5, 125.0, 123.7, 116.8, 104.7, 55.6, 46.9, 43.6, 28.0, 20.1

LC/MS 94.6% of purity

MS (ES^+): m/z 724.41 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100%), 639.37 (fragmentation $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_{11}\text{N}]^+$, 50%)

HRMS: Ionisation: TOF ES^+ Calcd for: $\text{C}_{45}\text{H}_{58}\text{N}_9$ 724.4815 Found: 724.4807

UV-vis (DMSO) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon_{\text{max}}/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 296 (16300), 352 (21700), 396 (13000), 415 (7600)

6,12,18-tri-N-(1,2-diaminoethyl)-5,11,17-triazatrinaphthylene **13a**

6,12,18-tri-chloro-5,11,17-triazatrinaphthylene **7a** (95.0mg, 0.196mmol, 1.0 equiv.) is heated to reflux in ethyldiamine (4.0mL, large excess) under nitrogen for 80hrs. After cooling to RT, the mixture is evaporated to dryness. The residue is taken up in DCM; the organic phase is washed twice with water, dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM/MeOH/ NH_4OH 15% 85/13/2) to afford 6,12,18-tri-N-(1,2-diaminoethyl)-5,11,17-triazatrinaphthylene **13a** as an orange powder (85.0mg, 78% chemical yield).

Rf (DCM/MeOH/ NH_4OH 28% 8/17.5/2.5): 0.77

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ (ppm) 8.23 (d, $J=9.0\text{Hz}$, 3H), 7.84 (d, $J=9.0\text{Hz}$, 3H), 7.59 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H), 7.26 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 3H), 3.98 (t, $J=6.6\text{Hz}$, 6H), 3.14 (t, $J=6\text{Hz}$, 6H)

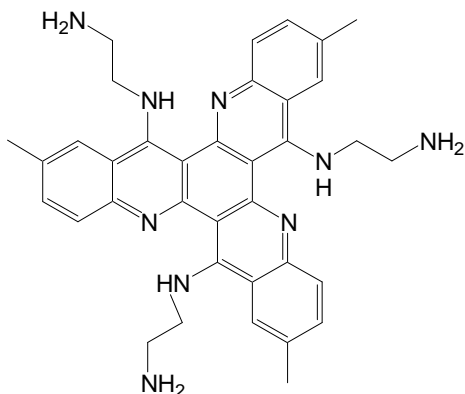
$^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, CDCl_3): δ (ppm) 157.6, 152.5, 146.5, 130.2, 127.0, 126.6, 121.9, 118.5, 108.3, 54.3, 43.6

MS (ES^+): m/z 556.3 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100%), 513.2 (fragmentation $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_5\text{N}]^+$, 74%)

HRMS: Ionisation: TOF ES^+ Calcd for: $\text{C}_{33}\text{H}_{34}\text{N}_9$ 556.2937 Found: 556.2910

MP 174°C

UV-vis (DMSO) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon_{\text{max}}/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 291 (37200), 352 (56100), 392 (34300), 412 (20200)

6,12,18-tri N-(1,2-diaminoethyl)-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **13b**

6,12,18-tri-chloro-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **7b** (45.0mg, 0.085mmol, 1.0 equiv.) is heated to reflux in ethyldiamine (3.0mL, large excess) under nitrogen for 80hrs. After cooling to RT, the mixture is evaporated to dryness. The residue is taken up in DCM; the organic phase is washed twice with water, dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM/MeOH/ NH_4OH 15% 85/13/2) to afford 6,12,18-tri-N-(1,2-diaminoethyl)-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **13b** as an orange powder (28.0mg, 55% chemical yield).

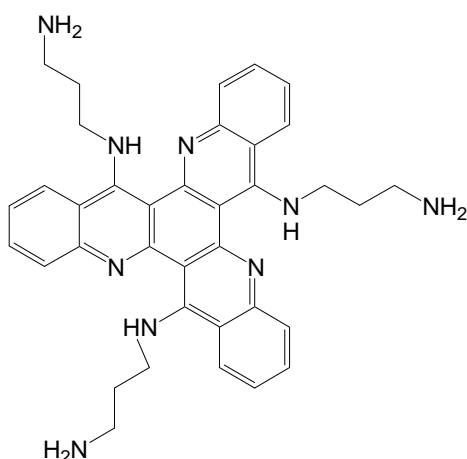
Rf (DCM/MeOH/ NH_4OH 28% 8/17.5/2.5): 0.77

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ (ppm) 8.02 (s 3H), 7.79 (d, $J=8.2\text{Hz}$, 3H), 7.44 (d, $J=8.2\text{Hz}$, 3H), 3.99 (t, $J=6.0\text{Hz}$, 6H), 3.14 (t, $J=6.0\text{Hz}$, 6H), 2.53 (s, 9H)

MS (ES⁺): m/z 597.7 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100%), 554.6 (fragmentation $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_2\text{H}_5\text{N}]^+$, 80%)

MP 177°C

UV-vis (DMSO) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon_{\text{max}}/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 291 (34700), 352 (53600), 392 (31800), 412 (17700)

6,12,18-tri-N-(1,3-diaminopropyl)-5,11,17-triazatrinaphthylene **14a**

6,12,18-tri-chloro-5,11,17-triazatrinaphthylene **7a** (64.0mg, 0.132mmol, 1.0 equiv.) is heated to reflux in propyldiamine (4.0mL, large excess) under nitrogen for 40hrs. After cooling to RT, the mixture is evaporated to dryness. The residue is taken up in DCM; the organic phase is washed twice with water, dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM/MeOH/ NH_4OH 15% 80/17.5/2.5) to afford 6,12,18-tri-N-(1,3-diaminopropyl)-5,11,17-triazatrinaphthylene **14a** as an orange powder (18.0mg, 23% chemical yield).

Rf (DCM/MeOH/ NH_4OH 15% 8/17.5/2.5): 0.25

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ (ppm) 8.24 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 3H), 7.76 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 3H), 7.55 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 3H), 7.21 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 3H), 3.96 (t, $J=6.6\text{Hz}$, 6H), 2.81 (t, $J=6.9\text{Hz}$, 6H), 1.99 (quint, $J=6.9\text{Hz}$, 6H)

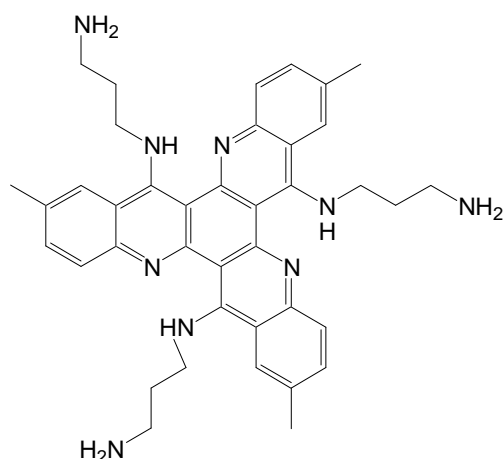
$^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, CDCl_3): δ (ppm) 156.0, 151.4, 145.4, 129.0, 125.7, 125.7, 120.6, 117.3, 104.7, 47.1, 39.0, 34.4

MS (ES^+): m/z 598.3 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100%), 541.3 (fragmentation $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_7\text{N}]^+$, 48%)

HRMS: Ionisation: TOF ES^+ Calcd for: $\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{N}_9$ 598.3407 Found: 598.3419

MP 104°C

UV-vis (DMSO) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon_{\text{max}}/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 293 (13200), 352 (18500), 396 (11300), 413 (7900)

6,12,18-tri N-(1,3-diaminopropyl)-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **14b**

From 6,12,18-tri-chloro-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **7b** (38.8mg, 0.07mmol, 1.0 equiv.) is heated to reflux in propyldiamine (3.0mL, large excess) under nitrogen for 40hrs. After cooling to RT, the mixture is evaporated to dryness. The residue is taken up in DCM; the organic phase is washed twice with water, dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM/MeOH/ NH_4OH 15% 80/17.5/2.5) to afford 6,12,18-tri-N-(1,3-diaminopropyl)-2,8,14-trimethyl-5,11,17-triazatrinaphthylene **14b** as an orange powder (13.3mg, 32% chemical yield).

Rf (DCM/MeOH/ NH_4OH 28% 8/17.5/2.5): 0.48

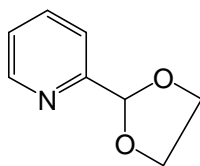
$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ (ppm) 8.05 (s, 3H), 7.75 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 3H), 7.43 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 3H), 3.97 (t, $J=6.6\text{Hz}$, 6H), 2.82 (t, $J=6.9\text{Hz}$, 6H), 2.49 (s, 9H), 1.99 (quint, $J=6.6\text{Hz}$, 6H)

MS (ES^+): m/z 640.4 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 96%), 598.3 (63%), 583.3 (fragmentation $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_7\text{N}]^+$, 100%)

HRMS: Ionisation: TOF ES^+ Calcd for: $\text{C}_{39}\text{H}_{46}\text{N}_9$ 640.3876 Found: 640.3889

MP 110°C

UV-vis (DMSO) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon_{\text{max}}/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 296 (11700), 351 (15800), 396 (8700), 413 (6000)

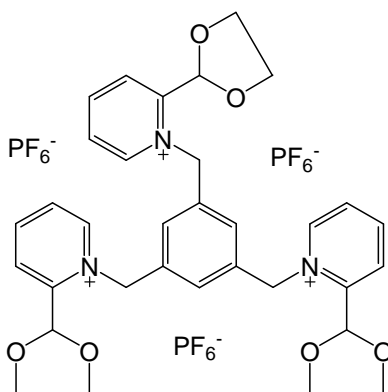
2-(1,3-dioxalan-2-yl)pyridine **15**

A solution of 2-carboxaldehyde-pyridine (5.00g, 4.5mL, 46.7mmol, 1.0equiv.), ethylene glycol (5.80g, 5.3mL, 93.4mmol, 2.0equiv.) and *para*-toluene-sulfonic acid (2.4g) in benzene (70mL) is heated to reflux under nitrogen for 88hrs with a Dean Stark apparatus. After cooling to RT, the solution is washed with a saturated solution of Na₂CO₃ (100mL). The organic phase is further washed with water (2x100mL), dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to afford 2-(1,3-dioxalan-2-yl)pyridine **15** (5.14g, 73% chemical yield) as a red oil.

¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 8.55 (m, 1H), 7.85 (m, 1H), 7.52 (m, 1H), 7.40 (m, 1H), 5.71 (d, J=4.8Hz, 1H), 4.11 (m, 2H), 3.98 (m, 2H)

¹³C-NMR (75MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 157.1, 148.8, 137.0, 124.3, 120.7, 103.4, 65.1 (2C)

MS (CI⁺): *m/z* 152 ([M+H]⁺, 100%), 168 ([M+ NH₃], 96%)

1,3,5-tris{[1-(1,3-dioxalan-2-yl)pyridinium]methyl}benzene tri(hexafluorophosphate) **16**

A solution of 2-(1,3-dioxalan-2-yl)pyridine **15** (4.78g, 31.6mmol, 3.5equiv.) and 1,3,5-tris(bromomethyl)benzene (3.42g, 9.6mmol, 1.0equiv.) in NMP (N-methyl-morpholine, 7mL, large excess) is stirred at RT under nitrogen for 14 days. The solution is poured in ethyl acetate (600mL), and the mixture is vigorously stirred. The resulting white solid is filtered which affords 1,3,5-tris{[1-(1,3-dioxalan-2-yl)pyridinium]methyl}benzene tri(bromide) with

remaining traces of NMP as a brown sticky oil. This product (9.19g) is dissolved in water (10mL) and NaPF₆ is added (11.45g, 68.0mmol, 6.0equiv.) as a 30% aqueous solution (20mL). The mixture is stirred and let at 4°C for 16hrs. The resulting precipitate is filtered, washed and dried with diethyl ether to afford 1,3,5-tris{[1-(1,3-dioxalan-2-yl)pyridinium]methyl}benzene tri(hexafluorophosphate) **16** (6.86g, 71% chemical yield) as a white solid.

¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 8.99 (d, J=6.0Hz, 3H), 8.75 (t, J=7.8Hz, 3H), 8.315 (d, J=7.8Hz, 3H), 8.23 (t, J=6.0Hz, 3H), 7.21 (s, 3H), 6.35 (s, 3H), 5.94 (s, 6H), 4.03 (s, 12H)

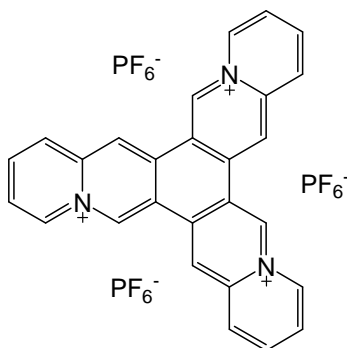
¹³C-NMR (75MHz, DMSO-d₆): 157.4, 147.6, 147.5, 137.6, 124.7, 128.2, 126.4, 97.2, 65.8, 59.6

LRMS (TOF ES⁺): *m/z* 357.6 ([M³⁺,PF₆⁻]²⁺, 100%), 190 ([M³⁺], 50.6%), 860.1 ([M³⁺,2PF₆⁻]⁺, 11.7%)

HRMS (TOF ES⁺) Calcd for: 570.2604 Found: 570.2628 C₃₃H₃₆N₃O₆³⁺

MP 189-190°C

4a,10a,16a-triazaniatrinalphthylene ou Trisquinonilizinium TrisQ 17a



A suspension of 1,3,5-tris{[1-(1,3-dioxalan-2-yl)pyridinium]methyl}benzene tri(hexafluorophosphate) **16** (2.04g, 2.0mmol, 1.0equiv.) in methane sulfonic acid (12mL) is stirred at 200°C under nitrogen for 65hrs. After cooling to RT, the solution is poured on ice (10g) and the mixture is stirred at 0°C. The aqueous phase is extracted with nitromethane (2x50mL), the organic layer is dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue is taken up in a mixture acetonitrile/water 1/1 (50mL) and let at 4°C for 16hrs. The resulting precipitate is filtered and dried with diethyl ether to afford Trisquinonilizinium **TrisQ 17a** (1.49g, 90% chemical yield) as a pale grey solid.

¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 11.06 (s, 3H), 9.91 (s, 3H), 9.43 (d, J=6.9Hz, 3H), 8.75 (d, J=9Hz, 3H), 8.66 (t, J=9Hz, 3H), 8.41 (t, J=6.9Hz, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 142.0, 139.0, 137.5, 137.4, 132.9, 127.7, 125.8, 122.3, 121.8

MS (ES⁺): *m/z* 382.1 ([M³⁺-2H]⁺, 100%), 528.0 ([M³⁺,PF₆⁻-H]⁺, 12%), 674.0 ([M³⁺,2PF₆⁻]⁺, 8%)

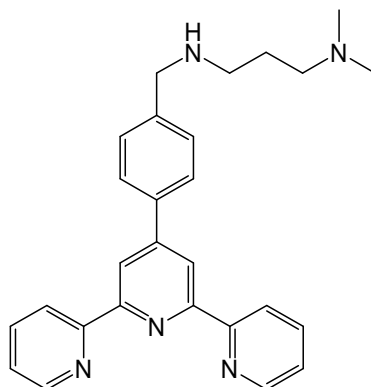
HRMS (TOF ES⁺): Calcd for: 384.1501 Found: 384.1467 C₂₇H₁₈N₃³⁺

Elemental Analysis: Calcd for : C₂₇H₁₈F₁₈N₃P₃ : C 39.58%, H 2.21%, N 5.13%, Found : C 39.55%, H 2.55%, N 5.15%

MP >200°C

UV-vis (H₂O) λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹cm⁻¹): 257 (54000), 308 (38200), 350 (27600), 368 (35800), 388 (35900)

4'-(4-[3-dimethylamino-1-propyl]amino-methyl-phenyl)-2,2':6',2''-terpyridine ctpy 20



In an argon purged flask containing anhydrous CCl₄ (7mL) are introduced 4'-(4-methylphenyl)-2,2':6',2''-terpyridine (300.0mg, 0.93mmol, 1.0equiv.), N-bromosuccinimide (165.0mg, 0.93mmol, 1.0equiv.) and azobisisobutyronitrile (AIBN, 4.5mg, 0.028mmol, 0.03equiv.). The mixture is heated to reflux under nitrogen for 6hrs then cooled to RT. The obtained precipitate is filtered, washed and dried with diisopropylether to afford 4'-(4-bromo-methyl-phenyl)-2,2':6',2''-terpyridine (205.0mg, 55% chemical yield) as a white solid.

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 8.80 (m, 4H), 8.72 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.96-7.90 (m, 4H), 7.58 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.40 (ddd, J=7.5Hz, 6.0Hz, 1.2Hz, 2H), 4.61 (s, 2H)

¹³C-NMR (75MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 155.7, 149.4, 148.9, 138.7, 138.3, 137.1, 129.6, 127.6, 124.0, 121.2, 118.7, 33.0.

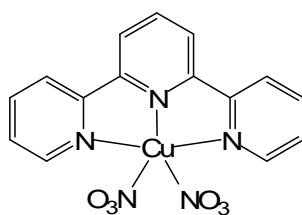
A solution of 4'-(4-bromo-methyl-phenyl)-2,2':6',2''-terpyridine (151.5mg, 0.38mmol, 1.0equiv.) and Et₃N (53μL, 0.38mmol, 1.0equiv.) in N,N-dimethyl-amino-propylamine (10mL, large excess) is stirred at 90°C under nitrogen for 4 days. After concentration to dryness, the residue is dissolved in DCM (20mL) and washed with a 5% NaHCO₃ solution (1x20mL) and H₂O (2x20mL). The organic phase is dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is taken up in a minimal amount of MeOH/HCl (prepared with acetyl chloride in dry MeOH) and precipitated with Et₂O. The precipitate is dissolved in H₂O, the pH is adjusted to 8 by addition of NaOH 5% and the aqueous phase is extracted with toluene (5x20mL). The organic layer is dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford **ctpy 20** as yellow sticky oil (81.2mg, 51% chemical yield).

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 8.76 (m, 4H), 8.70 (d, J=7.8Hz, 2H), 7.90 (m, 4H), 7.49 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.37 (m, 2H), 3.9 (s, 2H), 2.74 (t, J=7.2 Hz, 2H), 2.37 (t, J=7.2Hz, 2H), 2.26 (s, 6H), 2.04 (s broad, 1H), 1.75 (q, J=7.2Hz, 2H).

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm) 156.4, 155.9, 150.1, 149.1, 141.6, 137.0, 136.8, 128.6, 127.3, 123.8, 121.4, 118.8, 58.15, 53.7, 48.0, 45.6, 28.1

MS (CI⁺): *m/z* 424 ([M+H]⁺, 100%)

[Cu-(2,2':6',2''-terpyridine)(NO₃)₂] **Cu-tpy 21**



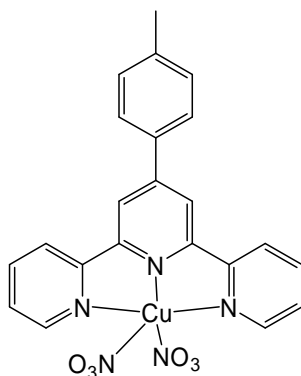
A solution of Cu(NO₃)₂ (16.1mg, 0.09mmol, 1.0equiv.) in anhydrous acetonitrile (2mL) is layered onto a solution of 2,2':6',2''-terpyridine (20.0mg, 0.09mmol, 1.0equiv.) in anhydrous DCM (2mL) and the solution is let at 4°C. After 3 days, **Cu-tpy 21** is obtained as blue needles (15.2mg, 49% chemical yield).

MS (TOF ES⁺) (MeOH): *m/z* 296.0 ([Cu(tpy)(NO₃)]⁺-(NO₃), fragmentation, 100%), 358.0 ([Cu(tpy)(NO₃)]⁺, 58%)

HRMS (TOF ES⁺) (MeOH) Calcd for: 358.0127 Found: 358.0122 C₁₅H₁₁N₄O₃⁶³Cu⁺

UV-Vis: λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹ cm⁻¹): 264 nm (15530), 275 (15300), 297 (17980), 325 (18090)

[Cu(4'-(4-methylphenyl)-2,2':6',2''-terpyridine)(NO₃)₂] Cu-tt_{py} 22



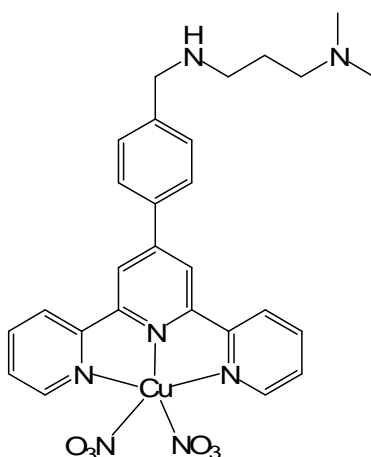
A solution of Cu(NO₃)₂ (11.6mg, 0.06mmol, 1.0equiv.) in anhydrous acetonitrile (1.5mL) is layered onto a solution of 4'-(4-methylphenyl)-2,2':6',2''-terpyridine (20.0mg, 0.06mmol, 1.0equiv.) in anhydrous DCM (1.5mL) and the solution is let at 4°C. After 4 days, **Cu-tt_{py} 22** is obtained as blue needles (11.2mg, 35% chemical yield).

MS (TOF ES⁺) (MeOH): *m/z* 386 (fragmentation, 100%), 448 ([Cu(tpy)(NO₃)]⁺, 45%)

HRMS (TOF ES⁺) (MeOH) Calcd for: 448.0597 Found: 448.0646 C₂₂H₁₇N₄O₃⁶³Cu⁺

UV-Vis: λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹ cm⁻¹): 267 nm (18400), 279 (23940), 287 (34660), 329 (21980), 344 (17710)

[Cu-(4'-(4-[3-dimethylamino-1-propyl]amino-methyl-phenyl)-2,2':6',2''-terpyridine)(NO₃)₂] Cu-ct_{py} 23



A solution of Cu(NO₃)₂ (9.4mg, 0.05mmol, 1.0equiv.) in anhydrous acetonitrile (1.2mL) is layered onto a solution of 4'-(4-[3-dimethylamino-1-propyl]amino-methyl-phenyl)-2,2':6',2''-

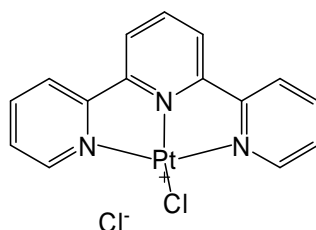
terpyridine **ctpy 20** (21.1mg, 0.05mmol, 1.0equiv.) in anhydrous DCM (1.2mL) and the solution is let at 4°C. After 2 days, **Cu-ctpy 23** has precipitated as a green solid (10.1mg, 37% chemical yield).

MS (TOF ES⁺) (MeOH+H₂O) *m/z* 521.1 (fragmentation, 100%), 386 (fragmentation, 100%), 548.1 ([**Cu-ctpy**-(NO₃)]⁺, 81%)

HRMS (TOF ES⁺) (MeOH-H₂O) Calcd for: 548.1597 Found: 548.1557 C₂₇H₂₉N₆O₃⁶⁴Cu⁺

UV-Vis: λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹ cm⁻¹): 268 nm (16250), 280 (21480), 288 (28910), 327 (10940), 346 (9220)

[Pt(2,2':6',2''-terpyridine)Cl]Cl **Pt-tpy 24**



To a suspension of Pt(COD)Cl₂ (48.1mg, 0.13mmol, 1.0equiv.) in dry MeOH (4mL), heated to 50°C under nitrogen, is added 2,2':6',2''-terpyridine (30mg, 0.13mmol, 1.0equiv.). The mixture is stirred at 50°C under nitrogen and protected from light for 5hrs. The obtained suspension is filtered on membrane (Schleicher & Schuell, 1μm), the resulting yellow solid is washed with EtOH and Et₂O to afford pure **Pt-tpy 25** (62mg, 95% chemical yield) as a bright red powder^{1,2}.

¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 8.95 (d, J=5.4Hz, 2H), 8.65 (m, 5H), 8.52 (t, J=7.6Hz, 2H), 7.97 (t, J=7.6Hz, 2H)

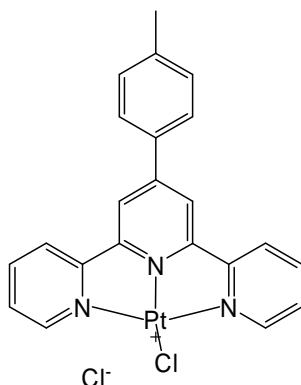
MS (TOF ES⁺): *m/z* 462.9 ([M-Cl]⁺, 100%)

HRMS (TOF ES⁺) (MeOH) Calcd for: 463.029 Found: 463.029 C₁₅H₁₁N₃³⁵Cl¹⁹⁵Pt⁺

UV-Vis: λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹ cm⁻¹): 262 nm (25690), 279 (23250), 334 (17000), 403 (5150)

¹ Annibale, G.; Brandolisio, M.; Pitteri, B. *Polyhedron* **1995**, *14*, 451-453.

² Sengül, A. *Turk.J.Chem* **2004**, *28*, 667-672.

[Pt(4'-(4-methylphenyl)-2,2':6',2''-terpyridine)Cl]Cl **Pt-ttpty 25**

To a suspension of Pt(COD)Cl₂ (57.8mg, 0.15mmol, 1.0equiv.) in dry MeOH (4mL), heated to 50°C under nitrogen, is added 4'-(4-methylphenyl)-2,2':6',2''-terpyridine (50mg, 0.15mmol, 1.0equiv.). The mixture is stirred at 50°C under nitrogen and protected from light for 3h30. The obtained suspension is filtered on membrane (Schleicher & Schuell, 1µm), the resulting yellow solid is washed with EtOH and Et₂O to afford pure **Pt-ttpty 25** (84.0mg, 92% chemical yield).

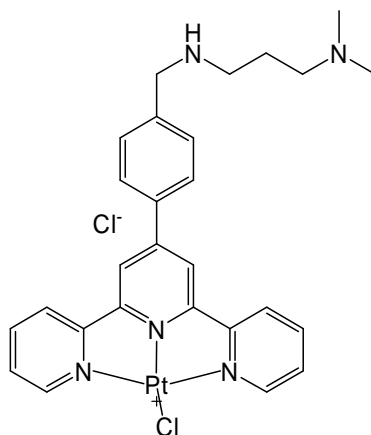
¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 8.98 (s, 2H), 8.93 (d, J=4.8Hz, 2H), 8.87 (d, J=7.8Hz, 2H), 8.54 (t, J=7.8Hz, 2H), 8.14 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.96 (t, J=6.3Hz, 2H), 7.5 (d, J=8.4Hz, 2H), 2.45 (s, 3H)

MS (ES⁺): *m/z* 554 ([M-Cl]⁺, 100%)

HRMS (TOF ES⁺) (MeOH) Calcd for: 553.0759 Found: 553.0763 C₂₂H₁₇N₃³⁵Cl¹⁹⁵Pt⁺

UV-Vis: λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹ cm⁻¹): 262 nm (25690), 279 (23250), 334 (17000), 403 (5150)

[Pt(4'-(4-[3-dimethylamino-1-propyl]amino-methyl-phenyl)-2,2':6',2''-terpyridine)Cl]Cl Pt-ctpy 26



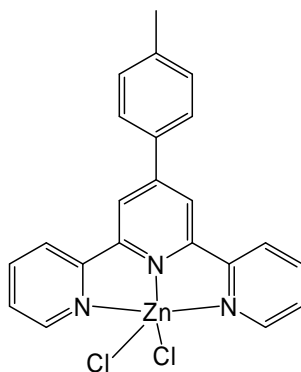
To a suspension of $\text{Pt}(\text{COD})\text{Cl}_2$ (23.6mg, 0.06mmol, 1.0equiv.) in dry MeOH (1.5mL), heated to 50°C under nitrogen, is added 4'-(4-[3-dimethylamino-1-propyl]amino-methyl-phenyl)-2,2':6',2''-terpyridine **ctpy 20** (26.7mg, 0.06mmol, 1.0equiv.) in dry MeOH (1.5mL). The mixture is stirred at 50°C under nitrogen and protected from light for 16hrs. Some drops of Et_2O are added to the resulting solution and upon diffusion **Pt-ctpy 26** precipitates as thin orange needles (15.0mg, 35% chemical yield).

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) 8.68 (d, $J=6.3\text{Hz}$, 2H), 8.56 (m, 4H), 8.28 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 2H), 8.20 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 2H), 7.98 (m, 2H), 7.63 (6.3Hz, 2H), 3.8 (s, 2H), 3.51-3.31 (m broad, 8H), 2.30 (s broad, 2H), 1.59 (s broad, 2H)

MS (ES^+): m/z 653 ($[(\text{M}=\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{Cl}_2\text{Pt})-\text{Cl}]^+$, 100%), 310 ($[\text{M}-2\text{Cl}]^{2+}$, 93.2%), 568 ($[\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{ClPt}]^+$ fragmentation, 81%)

HRMS (TOF ES^+) (MeOH) Calcd for: 653.1759 Found: 653.1758 $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{N}_5^{35}\text{Cl}^{195}\text{Pt}^+$ and Calcd for: 654.1761 Found: 654.1763 $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{N}_5^{35}\text{Cl}^{196}\text{Pt}^+$

UV-Vis: $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon_{\text{max}}/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 258 nm (19860), 283 (21050), 334 (10660), 392 (2960)

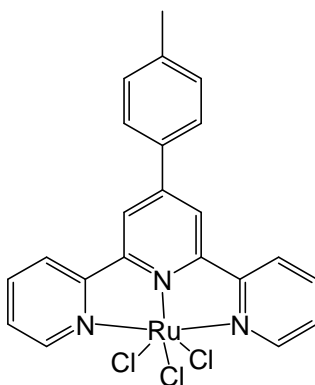
[Zn(4'-(4-methylphenyl)-2,2':6',2''-terpyridine)Cl₂] **Zn-ttpy 27**

To a solution of 4'-(4-methylphenyl)-2,2':6',2''-terpyridine (20.0mg, 0.06mmol, 1.0equiv.) in dry DCM (10mL) is added dropwise a solution of ZnCl₂ (8.4mg, 0.06mmol, 1.0equiv.) in anhydrous acetonitrile (10mL). The mixture is stirred under nitrogen for 24hrs. The resulting white precipitate is filtered and dried with Et₂O to afford **Zn-ttpy 27** as a white solid (16.2mg, 57% chemical yield).

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 9.22 (d, J=4.5Hz, 2H), 8.4 (s, 2H), 8.3 (d, J=7.8Hz, 2H), 8.1 (t, J=7.8Hz, 2H), 7.73 (m, 4H), 7.46 (d, J=7.8Hz, 2H), 2.54 (s, 3H)

MS (TOF ES⁺) (MeOH): *m/z* 355 ([Zn(tpy)₂]²⁺, 100%), 422 ([Zn(tpy)Cl]⁺, 10.6%)

UV Vis: λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹ cm⁻¹): 279 (26370), 286 (31010), 323 (21150), 337 (16770)

[Ru (4'-(4-methylphenyl)-2,2':6',2''-terpyridine)Cl₃] **Ru-ttpy 28**

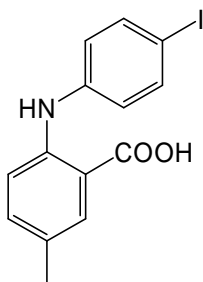
To a solution of 4'-(4-methylphenyl)-2,2':6',2''-terpyridine (50.0mg, 0.16mmol, 1.0equiv.) in absolute EtOH (10mL) is added dropwise a solution of RuCl₃.xH₂O (% Ru=41.6) (36.0mg, 0.16mmol, 1.0equiv.) in absolute EtOH (7mL). The solution is heated to reflux under nitrogen

for 16hrs. The resulting brown precipitate is filtered and dried with Et₂O to afford **Ru-ttpty 28** as a light brown powder (68mg, 82.6% chemical yield)¹.

MS (TOF ES⁺) (MeOH): *m/z* 460.0 ([Ru(ttpty)Cl]⁺, 100%), 494.0 ([Ru(ttpty)Cl₂]⁺, 53%)

UV Vis: λ_{max}/nm (ε_{max}/M⁻¹ cm⁻¹): 279 (26370), 286 (31010), 323 (21150), 337 (16770)

2-(4-iodophenylamino)-5-methylbenzoic acid 29



A solution of 2-amino-5-methylbenzoic acid (5.00g, 33.1mmol, 1.0equiv.), 1,4-diiodobenzene (15.27g, 46.3mmol, 1.4equiv.), K₂CO₃ (4.57g, 33.1mmol, 1.0equiv., dried in oven), CuI (0.63g, 3.3mmol, 0.1equiv.) and Cu (0.21g, 3.3mmol, 0.1equiv.) in pentanol (150mL) is heated to reflux under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, the solution is concentrated under reduced pressure, the residue is dissolved in MeOH (800mL) and the solution is filtered on celite. The filtrate is concentrated to a volume of ~200mL, water is added (200mL) and the solution is acidified to pH 4-5 with a 12N HCl solution. The resulting precipitate is filtered, suspended and stirred in diethyl ether (300mL). Pentane (300mL) is added; the resulting precipitate is filtered and washed with pentane and diethyl ether. The filtrate is concentrated under reduced pressure and the residue is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM then DCM/MeOH 95/5) to afford 2-(4-iodophenylamino)-5-methylbenzoic acid **29** (6.31g, 54% chemical yield) as a yellow solid.

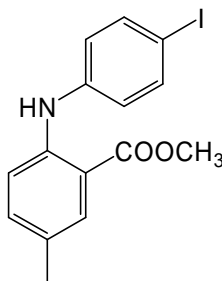
¹H-NMR (300MHz, acetone-d₆): δ (ppm) 7.82 (s, 1H), 7.60 (d, J=9.0Hz, 2H), 7.23 (m, 2H), 7.05 (d, J=9Hz, 2H), 2.25 (s, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, acetone-d₆): δ (ppm) 169.9, 144.5, 141.6, 138.2 (3C), 135.0, 132.0, 127.3, 122.5 (2C), 114.8, 83.9, 19.5

MS (CI⁺): *m/z* 354 ([C₁₄H₁₂INO₂+H]⁺, 100%), 228 [(**29**-I)+H⁺], 100%)

¹ Newkome, G.R.; Cho, T.J.; Moorefield, C.N.; Cush, R.; Russo, P.S.; Godinez, L.A.; Saunders, M.J.; Mohapatra, P. *Chem. Eur. J.* **2002**, 8, 2946-2954.

MP 226°C

Methyl 2-(4-iodophenylamino)-5-methyl benzoate **30**

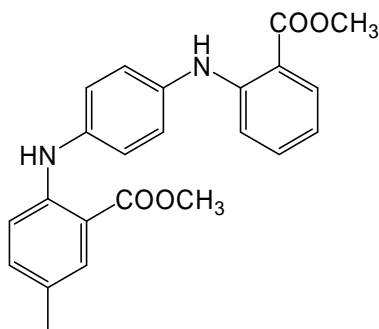
To a solution of 2-(4-iodophenylamino)-5-methylbenzoic acid **29** (4.00g, 11.3mmol, 1.0equiv.) in dry MeOH (200mL) is slowly added concentrated H₂SO₄ (10.1mL, 192.1mmol, 17.0equiv.). The solution is heated to reflux under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, the volume of the solution is reduced to ~50mL and a mixture of DCM/H₂O (300mL, 2/1) is added. The organic layer is washed with H₂O (100mL), dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue is filtered on silica gel (eluent DCM) and concentrated to afford methyl 2-(4-iodophenylamino)-5-methyl benzoate **30** (4.05g, 97% chemical yield) as a brown oil.

¹H-NMR (300MHz, acetone-d₆): δ (ppm) 9.32 (s, 1H), 7.8 (s, 1H), 7.66 (d, J=8.7Hz, 2H), 7.28 (m, 2H), 7.11 (d, J=8.7Hz, 2H), 3.895 (s, 3H), 2.28 (s, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, acetone-d₆): δ (ppm) 168.6, 144.2, 141.8, 138.25 (3C), 135.0, 131.4, 127.6, 122.5 (2C), 115.1, 84.0, 51.3, 19.4

MS (CI⁺): *m/z* 368 ([C₁₅H₁₄INO₂+H]⁺, 100%), 242 ([(**30**-I)+H]⁺, 100%)

N-(2-methoxycarbonylphenyl)-*N*-(5-methyl-2-methoxycarbonylphenyl)-*para*-phenylenediamine **31**



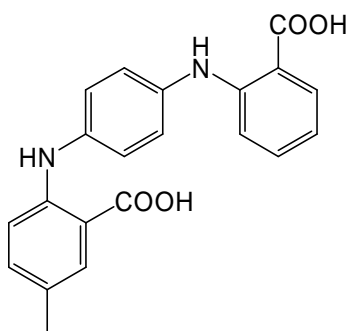
To a mixture of methyl 2-(4-iodophenylamino)-5-methyl benzoate **30** (2.44g, 6.6mmol, 1.0equiv.), methyl anthranilate (1.1mL, 8.3mmol, 1.25equiv.), cesium carbonate (4.33g, 13.3mmol, 2.0equiv.) and Pd(OAc)₂ (74.5mg, 0.3mmol, 0.05equiv.) in toluene (60mL) is finally added tri-*tert*-butylphosphine (3.0mL, 1.0mmol, 0.15equiv.). The mixture is stirred at reflux for 40hrs under nitrogen. After cooling to RT, the mixture is filtered on celite and the filtrate is evaporated to dryness. The residue is taken up in a mixture DCM/NH₄Cl 1M (2/1, 225mL), the organic phase is separated, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM/hexane 7/3) to afford *N*-(2-methoxycarbonylphenyl)-*N*-(5-methyl-2-methoxycarbonylphenyl)-*para*-phenylenediamine **31** (1.92g, 74% chemical yield) as a yellow solid.

¹H-NMR (300MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 9.47 (s, 1H), 9.33 (s, 1H), 7.89 (dd, *J*= 8.1Hz, 1.8Hz, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.41 (m, 1H), 7.24 (s, 4H), 7.28-7.13 (m, 3H), 6.80-6.75 (m 1H), 3.86-3.85 (2s, 6H), 2.235 (s, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 168.6 (2C), 148.0, 145.2, 137.2, 135.8 (2C), 134.8, 131.8, 131.35, 126.7, 124.2 (2C), 123.1 (2C), 117.6, 115.0, 114.0, 112.3, 111.8, 52.4 (2C), 20.1

MS (CI⁺): *m/z* 391 ([C₂₃H₂₂N₂O₄+H]⁺, 100%)

N-(2-hydroxycarbonylphenyl)-*N*-(2-hydroxycarbonyl-5-methylphenyl)-*para*-phenylenediamine **32**



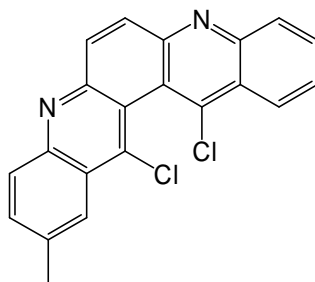
N-(2-methoxycarbonylphenyl)-*N*-(5-methyl-2-methoxycarbonylphenyl)-*para*-phenylenediamine **31** (1.40g, 3.6mmol, 1.0equiv.) is dissolved in acetone (500mL) and a 5% aqueous solution of NaOH is added (24mL, 12.0equiv.). The solution is stirred at RT under nitrogen for 16hrs. After cooling to RT, a mixture of DCM/H₂O (1/1, 430mL) is added. After phases' separation, the aqueous phase is acidified to pH 1 by addition of a solution of HCl (1M). The obtained suspension is filtered to afford *N*-(2-hydroxycarbonylphenyl)-*N*-(2-hydroxycarbonyl-5-methylphenyl)-*para*-phenylenediamine **32** (1.25g, 96% chemical yield) as a yellow solid.

¹H-NMR (300MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 13.0 (s broad, 2H), 9.59 (s broad, 1H), 9.44 (s broad, 1H), 7.89 (dd, *J*= 8.1Hz, 1.8Hz, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.375 (t, *J*=6.9Hz, 2H), 7.223 (s, 4H), 7.13 (d, *J*=7.5Hz, 2H), 6.77-6.72 (m, 1H), 2.23 (s, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 175.25, 175.2, 153.05, 150.4, 141.9, 140.6, 140.2, 139.4, 137.1, 136.8, 134.7, 132.1, 128.8, 127.7, 125.8, 122.1, 119.3, 118.6, 117.7, 117.3, 25.1

MS (FAB): *m/z* 363.2 ([C₂₁H₁₈N₂O₄+H]⁺, 100%)

MP>230°C

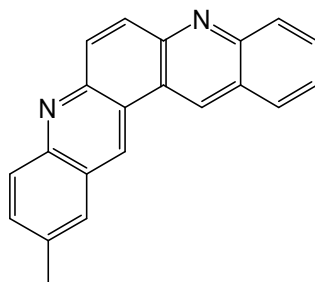
13,14-dichloro-2-methyl-dibenzo[b,j][4,7]phenanthroline **33**

N-(2-hydroxycarbonylphenyl)-N-(2-hydroxycarbonyl-5-methylphenyl)-*para*-phenylenediamine **32** (246.1mg, 0.68mmol, 1.0equiv.) is dried under vacuum at 110°C for 4hrs and POCl₃ (10mL) is added. The solution is stirred at reflux under nitrogen for 3.5hrs. After evaporation to dryness, the residue is dissolved in DCM (30mL) and slowly poured onto 20mL of an ice-cooled 15% NH₄OH. The biphasic mixture is separated; the organic phase is dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is purified by column chromatography on alumina (eluent DCM/MeOH 99/1) to afford 13,14-dichloro-2-methyl-dibenzo[b,j][4,7]phenanthroline **33** (208.4mg, 84% chemical yield) as a yellow brown solid.

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 8.56 (d, J= 8.7Hz, 1H), 8.3 (d, J=8.7Hz, 2H), 8.2 (d, J= 8.7Hz, 1H), 7.94 (t, J=8.1Hz, 1H), 7.88 (s, 2H), 7.8 (t, J=8.4Hz, 2H), 2.72 (s, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm) 150.8, 150.0, 147.9, 146.7, 138.4, 133.6, 133.5, 132.9, 131.1, 129.3, 129.1, 127.9, 125.1 (4C), 123.7, 120.8, 29.7

MS (CI⁺): *m/z* 363 ([C₂₁H₁₂Cl₂N₂+H]⁺, 100%)

2-methyl-dibenzo[b,j][4,7]phenanthroline **34**

To a suspension of 13,14-dichloro-2-methyl-dibenzo[b,j][4,7]phenanthroline **33** (424.5mg, 1.2mmol, 1.0equiv., dried under vacuum at 110°C for 2hrs) in THF (50mL) is added LiAlH₄

in small portions (1.64g, 18.7mmol, 36.0equiv.). After refluxing overnight, the mixture is cooled to 0°C and 1.7mL H₂O and EtOH are added successively. After stirring for 20 min the mixture is filtered and the solid residue washed with CHCl₃ until discoloration. The filtrate, containing 2-methyl-dibenzo[b,j][4,7]phenanthroline **7** along with hemi-reduced products, is concentrated under reduced pressure; the residue is subsequently reoxidized. The residue, dried under vacuum at 70°C for 2hrs, is diluted in acetic acid (55mL), (C₆H₅)₃C⁺ BF₄⁻ (582.3mg, 1.8mmol, 1.15equiv.) is added in one portion and the solution is heated to reflux under N₂ for 10min. After cooling to RT, the mixture is poured in water (250mL) and a 30% NaOH solution is added until pH 5. The resulting suspension is extracted with CHCl₃ (250mL), the organic phase is washed with water, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue is thoroughly washed with heptane and filtered. The resulting solid is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM/MeOH 95/5) to afford 2-methyl-dibenzo[b,j][4,7]phenanthroline **34** (212.4mg, 62% chemical yield) as a white solid.

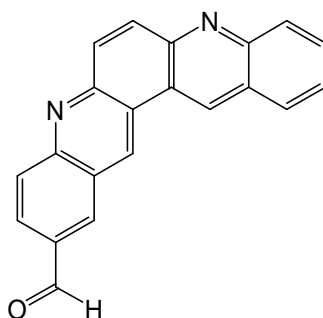
¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 9.52 (s, 1H), 9.44 (s, 1H), 8.36 (d, J=8.7Hz, 1H), 8.27-8.19 (m, 4H), 7.95-7.88 (m, 2H), 7.774-7.3 (m, 2H), 2.7 (s, 3H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm) 149.1, 148.3, 147.2, 136.9, 134.4, 133.7, 133.1, 130.42, 130.4, 129.6, 129.3, 129.0, 128.1, 126.8 (2C), 126.7, 126.6 (2C), 123.8, 123.7, 21.9

MS (CI⁺): *m/z* 295 ([C₂₁H₁₄N₂+H]⁺, 100%)

MP 260°C

2-carboxaldehyde-MPQ (2-carboxaldehyde-dibenzo[b,j][4,7]phenanthroline) **35**



A mixture of 2-methyl-dibenzo[b,j][4,7]phenanthroline **34** (or 2-methyl-(mono-*para*-quinacridine), 194.3mg, 0.66mmol, 1.0equiv.), selenium dioxide (87.6mg, 0.79mmol, 1.2equiv.) and naphthalene (6g) is heated at 215°C under nitrogen. After 3hrs of stirring, an

additional portion of selenium dioxide (20.0mg, 0.18mmol, 0.3equiv.) is added and the stirring is maintained at 215°C under nitrogen for 2hrs. After cooling down to RT, the mixture is dissolved in DCM/MeOH (2/1, 75mL). The insoluble part is removed by filtration on celite, and the filtrate is concentrated under reduced pressure. The resulting residue is thoroughly stirred in pentane, and the suspension is isolated by filtration. 2-carboxaldehyde-dibenzo[b,j][4,7]phenanthroline (or 2-carboxaldehyde-MPQ) **35** is obtained as an orange powder (156.6mg, 77% chemical yield).

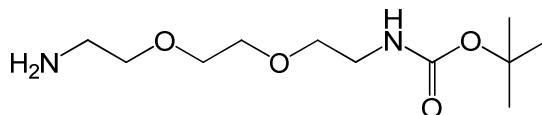
¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 10.35 (s, 1H), 9.69 (s, 1H), 9.57 (s, 1H), 8.72 (d, J=1.5Hz, 1H), 8.45-8.35 (m, 3H), 8.3 (s, 1H), 8.27-8.22 (m, 2H), 7.96 (td, J=8.7, 2.4Hz, 1H), 7.77 (td, J=7.8, 1.2Hz, 1H).

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): 191.2, 151.0, 150.4, 148.55, 148.4, 135.7, 134.45, 134.4, 133.8, 132.05, 131.0, 130.95, 130.5, 129.2, 128.2, 127.3, 127.2, 126.6, 125.8, 124.4, 123.1.

MS (CI⁺): *m/z* 309 ([C₂₁H₁₂N₂O+H]⁺, 100%).

MP >260°C

N-tert-butoxy-carbonyl-2,2'-(ethylenedioxy)bis(ethylamine) **36**



To a solution of 2,2'-(ethylenedioxy)bis(ethylamine) (2.00g, 1.97mL, 13.5mmol, 1.0equiv.) in chloroform (25mL) at 0°C, is added a solution of di-tert-butyl-carbonate (2.80g, 12.82mmol, 0.95equiv.) in chloroform (25mL) dropwise (during 4hrs). The solution is then stirred at RT under nitrogen for 16hrs. The solution is concentrated under reduced pressure and the residue is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM/MeOH/NH₄OH 28% 5/4/1) to afford *N*-tert-butoxy-carbonyl-2,2'-(ethylenedioxy)bis(ethylamine) **36** (1.76g, 53% chemical yield) as a pale yellow oil.

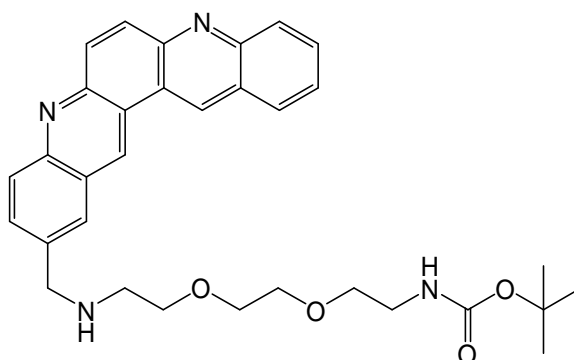
Rf (DCM/MeOH/NH₄OH 28% 5/4/1): 0.8

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 3.64 (d, J=3.9Hz, 4H), 3.57 (m, 4H), 3.35 (m, 3H), 2.91 (t, J=4.8Hz, 1H), 1.93 (s broad, 2H), 1.47 (s, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm) 156.0, 79.3, 73.3, 70.3, 70.26, 70.20, 41.7, 40.4, 28.4

MS (CI⁺): *m/z* 249 ([M+H]⁺, 100%), 250 (13%)

N-[methyl-2-dibenzo[*b,j*][4,7]phenanthrolyl]-*N'*-[*tert*-butoxycarbonyl]-2,2'-(ethylenedioxy)bis(ethylamine) **37**



A solution of 2-carboxaldehyde-MPQ **35** (67.6mg, 0.22mmol, 1.0equiv.) and *N*-*tert*-butoxycarbonyl-2,2'-(ethylenedioxy)bis(ethylamine) **36** (57.4mg, 0.24mmol, 1.1equiv.) in DCE (10mL) is stirred at 40°C under nitrogen for 24hrs. After the addition of sodium triacetoxyborohydride (124.6mg, 0.59mmol, 2.0equiv.), the stirring is maintained for 24hrs at 40°C under nitrogen. The mixture is cooled down to RT and diluted with DCM/NaHCO₃ saturated solution (1/1, 20mL). After phases' separation, the organic layer is washed with a NaHCO₃ saturated solution (1×10mL), dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. After purification by column chromatography on silica gel (DCM/MeOH 8/2), *N*-[methyl-2-dibenzo[*b,j*][4,7]phenanthrolyl]-*N'*-[*tert*-butoxycarbonyl]-2,2'-(ethylenedioxy)bis(ethylamine) **37** is obtained as a brown glue (63.6mg, 54% chemical yield).

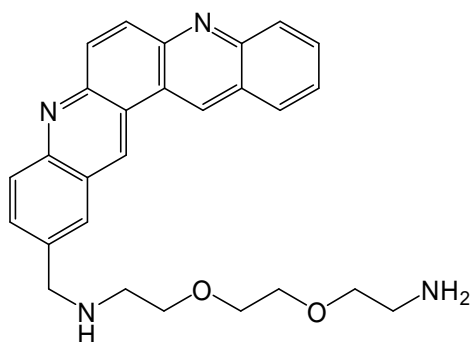
Rf (DCM/MeOH 8/2) = 0.33

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 9.53 (s, 1H), 9.5 (s, 1H), 8.37-8.3 (m, 2H), 8.26 (s, 2H), 8.22-8.17 (m, 2H), 7.95-7.9 (m, 2H), 7.73 (t, J=7.2Hz, 1H), 4.18 (s, 2H), 3.75 (t, J=4.4Hz, 2H), 3.69 (s, 4H), 3.6 (t, J=5.1Hz, 2H), 3.36 (q, J=8.2, 4.2Hz, 2H), 2.997 (t, J=5.1Hz, 2H), 1.46 (s, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm) 156.1, 148.7, 148.5, 148.1, 147.6, 134.0, 133.9, 131.3, 130.4, 130.3, 130.0, 129.2, 129.1, 128.4 (2C), 126.7, 126.5, 126.4, 126.3, 123.5, 123.4, 79.25, 70.3 (2C), 70.28 (2C), 53.5, 48.7, 40.4, 28.4 (3C)

MS (CI⁺): *m/z* 541 ([C₃₂H₃₆N₄O₄+H]⁺, 100%).

(*N*-methyl-2-dibenzo[*b,j*][4,7]phenanthroline-2,2'-(ethylenedioxy)bis(ethylamine)) **MPQ-PEG-NH₂ 38**



A solution of *N*-[methyl-2-dibenzo[*b,j*][4,7]phenanthrolyl]-*N*'-[2,2,2-tert-butoxycarbonyl]-2,2'-(ethylenedioxy)bis(ethylamine) **37** (63.6mg, 0.12mmol, 1.0equiv.) in a minimal amount of MeOH/HCl (solution prepared with dry MeOH and acetyl chloride, 4mL) is stirred at RT under nitrogen for 3hrs. Upon addition of Et₂O, a precipitate is formed and recovered by filtration. After several Et₂O washings, *N*-methyl-2-dibenzo[*b,j*][4,7]phenanthroline-2,2'-(ethylenedioxy)bis(ethylamine) dihydrochloride (or MPQ-PEG-NH₂.2HCl) is obtained as an orange oily solid (34.8mg, 58% chemical yield). For its neutralization, MPQ-PEG-NH₂.2HCl (33.0mg, 0.064mmol, 1.0equiv.) is suspended in acetonitrile (5mL) and solubilized by addition of a minimal amount of water. The pH is adjusted at 9 by progressive addition of cesium carbonate and the solution is concentrated under reduced pressure. The obtained residue is stirred in DCM for 2hrs and the resulting suspension is filtered off to eliminate inorganic salts. The filtrate is concentrated under reduced pressure to give MPQ-PEG-NH₂ **38** as orange-brown sticky oil (28.3mg, quantitative chemical yield).

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 9.17 (s, 1H), 9.15 (s, 1H), 8.12-7.93 (m, 5H), 7.81-7.74 (m, 2H), 7.625 (t, J=7.8Hz, 2H), 4.2 (s, 2H), 3.8 (t, J=4.5Hz, 2H), 3.66 (m, 6H), 3.14 (t, J=4.5Hz, 2H), 3.01 (t, J=4.5Hz, 2H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm) 148.5, 148.3, 147.9, 147.3, 134.0, 133.5, 131.5, 130.54, 130.50, 130.43, 130.35, 128.75, 128.22, 128.2 (2C), 126.82, 126.77, 126.6, 126.1, 123.45, 70.0 (2C), 64.8 (2C), 48.2, 40.1, 37.1

MS (CI⁺): *m/z* 441 ([C₂₇H₂₈N₄O₂+H]⁺, 100%)

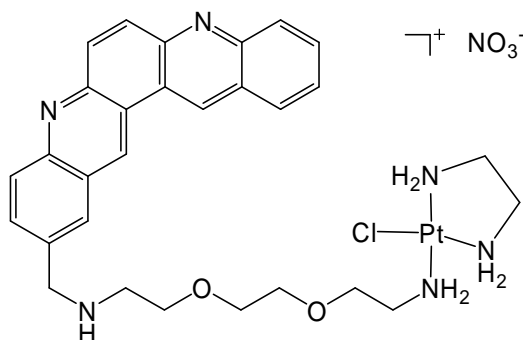
MS (FAB⁺): *m/z* 441.27 ([C₂₇H₂₈N₄O₂+H]⁺, 100%).

Pt(en)Cl₂ **39**

All the reactions are performed protected from light and water is distilled and filtered. K₂PtCl₄ (913mg, 2.2mmol, 1.0equiv.) is dissolved in water (46mL). KI (3.66g, 22.0mmol, 10equiv.) is added to the solution and the mixture is stirred for 5min. Ethylene diamine (147.5μL, 2.2mmol, 1.0equiv.) dissolved in water (4.6mL) is added slowly to the solution and the mixture is stirred at RT under nitrogen for 1hr. The obtained precipitate (Pt(en)I₂) is filtered on membrane 1μm (Schleicher & Schuell), washed with water, EtOH and diethyl ether and dried under vacuum for 16hrs. Pt(en)I₂ (1,08g) is suspended in a mixture water/acetone (45mL/5mL) and AgNO₃ (705mg, 4.1mmol, 1.95equiv.) is added. The solution is stirred at RT under nitrogen for 16hrs. The obtained precipitate (AgI) is filtered on membrane 1μm. A large excess of KCl is added to the clear filtrate; the yellow precipitate which forms slowly is filtered on membrane 1μm, washed with water, EtOH, diethyl ether and dried under vacuum for 3 days to afford Pt(en)Cl₂ **39** (613mg, 85.4% chemical yield) as yellow needles.

¹H-NMR (300MHz, DCl 0,1M): δ (ppm) 2.54-2.64 (m, 4H, shift compared with free ethylene diamine (s, 2.56ppm, 4H))

MS (TOF ES): *m/z* 291 ([C₂H₈³⁵ClN₂Pt]⁺, 26%), 293 ([C₂H₈³⁷ClN₂Pt]⁺, 19%), 307 ([C₂H₁₀³⁵ClN₂OPt]⁺= Pt(en)Cl(OH₂)⁺, 100%), 309 ([C₂H₁₀³⁷ClN₂OPt]⁺= Pt(en)Cl(OH₂)⁺, 85%), 321 ([C₃H₁₂³⁵ClN₂OPt]⁺= Pt(en)Cl(CH₃OH)⁺, 65%), 323 ([C₃H₁₂³⁷ClN₂OPt]⁺= Pt(en)Cl(CH₃OH)⁺, 49%)

Pt-MPQ 40

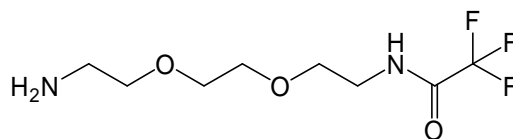
A solution of silver nitrate (13.2mg, 0.08mmol, 0.95equiv.) in dry DMF (0.6mL) is added to a suspension of Pt(en)Cl₂ **39** (26.6mg, 0.08mmol, 1.0equiv.) in dry DMF (2.7mL). The mixture is stirred at RT under nitrogen for 16hrs, protected from light. The resulting suspension is filtered on membrane (Schleicher and Schuell, 1μm) to remove silver chloride salts. A solution of **MPQ-PEG-NH₂** **38** (28.7mg, 0.065mmol, 0.8equiv.) in dry DMF/xylene (1/2, 2.3mL) is added to the clear filtrate containing the activated complex Pt(en)Cl(DMF)⁺. The mixture is stirred at 40°C under nitrogen, protected from light, for 16hrs. The solution is concentrated under reduced pressure and the residue is taken up in filtered H₂O (5mL). The resulting suspension is filtered off on membrane to remove unreacted platinum complexes. After lyophilisation of the filtrate, the residue is dissolved in MeOH and Pt-MPQ is precipitated by addition of Et₂O. The thin suspension is filtered on membrane to give **Pt-MPQ 40** as a yellow sticky solid (25.0mg, 48% chemical yield).

¹H-NMR (300MHz, MeOD): δ (ppm) 9.95 (s broad, 2H), 8.27 (m, 5H), 7.97 (t, 7.8Hz, 2H), 7.79 (t, J=7.8Hz, 2H), 3.89-3.59 (m, 10H), 2.92 (m, 2H), 2.65-2.53 (m, 6H)

¹⁹⁵Pt-NMR (MeOD): δ (ppm) -2655

MS (ES): (MeOH/DCM) *m/z* 731 ([C₂₉H₃₆ClN₆O₂Pt+H]⁺, 100%), 695 ([C₂₉H₃₆N₆O₂Pt]⁺, 63%)

HRMS: (MeOH/DCM) Ionisation: MALDI Calcd for: C₂₉H₃₆ClN₆O₂Pt 730.2236 Found: 730.2213.

N-trifluoroacetamide-2,2'-(ethylenedioxy)bis(ethylamine) **41**

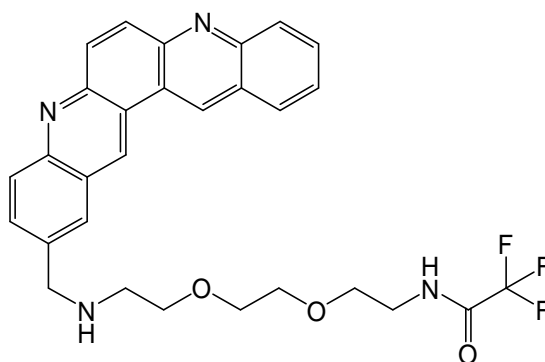
To a solution of 2,2'-(ethylenedioxy)bis(ethylamine) (2.00g, 1.97mL, 13.5mmol, 1.0equiv.) in THF (20mL) at -78°C, is added a solution of ethyl trifluoroacetate (1.61mL, 13.5mmol, 1.0equiv.) in THF (20mL) dropwise (during 3hrs). The solution is then stirred at RT under nitrogen for 16hrs. The solution is concentrated under reduced pressure and the residue is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM/MeOH/NH₄OH 28% 10/4/1) to afford *N*-trifluoroacetamide-2,2'-(ethylenedioxy)bis(ethylamine) **41** (1.18g, 36% chemical yield) as a pale yellow oil.

Rf (DCM/MeOH/NH₄OH 28% 10/4/1): 0.8

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 4.21 (s broad, 2H), 3.43 (m, 6H), 3.34 (m, 4H), 3.27 (s, 1H), 2.68 (t, J = 4.5Hz, 2H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm) 157.5 (q, J¹_{C-F}=36.75Hz), 116.0 (q, J²_{C-F}=285.75Hz), 72.65, 70.1, 69.9, 68.7, 41.15, 39.6

MS (CI⁺): *m/z* 245 ([M+H]⁺, 100%), 246 (14%)

N-[methyl-2-dibenzo[*b,j*][4,7]phenanthrolyl]-*N'*-[trifluoroacetamide]-2,2'-(ethylenedioxy)bis(ethylamine) **42**

A solution of 2-carboxaldehyde-MPQ **35** (116.3mg, 0.38mmol, 1.0equiv.) and *N*-trifluoroacetamide-2,2'-(ethylenedioxy)bis(ethylamine) **41** (110.5mg, 0.45mmol, 1.2equiv.) in DCE (10mL) is stirred at 40°C under nitrogen for 36hrs. After the addition of sodium triacetoxyborohydride (160.0mg, 0.75mmol, 2.0equiv.), the stirring is maintained for 72hrs at

40°C under nitrogen. The mixture is cooled down to RT and diluted with DCM/NaHCO₃ saturated solution (1/1, 40mL). After phases' separation, the organic layer is washed with a NaHCO₃ saturated solution (1×10mL), dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. After purification by column chromatography on silica gel (DCM/MeOH 8/2), *N*-[methyl-2-dibenzo[*b,j*][4,7]phenanthrolyl]-*N'*-[2,2,2-trifluoroacetamide]-2,2'-(ethylenedioxy)bis(ethylamine) **42** is obtained as a brown glue (29.4mg, 21% chemical yield).

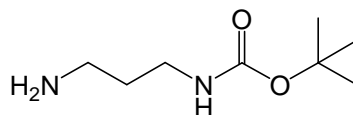
Rf (DCM/MeOH 8/2) = 0.3

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 9.21 (s, 1H), 9.17 (s, 1H), 8.21 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.96-8.14 (m, 5H), 7.8 (t, J=7.5Hz, 1H), 7.73 (d, J=8.7Hz, 1H), 7.62 (t, J=7.5Hz, 1H), 4.06 (s, 2H), 3.75 (t, J=4.5Hz, 2H), 3.64-3.69 (m, 6H), 3.56 (t, J=4.5Hz, 2H), 3.0 (m, 2H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm) 157.4 (q, J= 36.75Hz), 148.7, 148.6, 148.1, 147.6, 137.55, 133.9, 131.2, 130.4, 130.3, 130.0, 129.3, 129.1, 128.1, 126.8, 126.6, 126.5, 126.3, 123.6, 123.3, 116.0 (q, J= 285.75Hz), 70.35, 70.1, 70.0, 68.8, 53.45, 48.7, 39.7, 29.8

MS (CI⁺): *m/z* 537 ([M+H]⁺, 100%), 538 (34%), 539 (8.5%)

N-{1,3-diaminopropyl}-*tert*-butoxycarbonyl **43**



To a solution of 1,3-diaminopropan (3.55g, 4mL, 47.9mmol, 1.01equiv.) in absolute EtOH (200mL), is added *tert*-butyl-phenyl carbonate (9.23g, 8.8mL, 47.5mmol, 1.0equiv.). The solution is heated to reflux under nitrogen for 20hrs. After cooling to RT, the solution is concentrated under reduced pressure. The residue is taken up in water (300mL), the solution is acidified by a 1M HCl solution to a pH 3-4 and extracted with DCM (3x200mL). The aqueous phase is made strongly basic by addition of a 15% NaOH solution and extracted with DCM (3x250mL). The organic phase is dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford *N*-{1,3-diaminopropyl}-*tert*-butoxycarbonyl **43** (5.52g, 66.7% chemical yield) as a pale yellow oil.

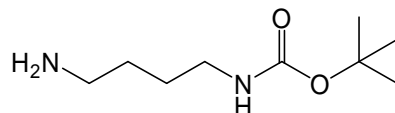
Rf (DCM/MeOH/NH₄OH 18% 80/18/2): 0.3

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 4.85 (s broad, 1H), 3.11 (q, J=6.3Hz, 2H), 2.66 (t, J=6.6Hz, 2H), 1.51 (quint, J=6.6Hz, 2H), 1.34 (s, 9H), 1.2 (s broad, 2H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm) 156.51, 79.41, 40.11, 38.8, 33.8, 28.8

MS (ES⁺): m/z 175.3 ([M+H]⁺, 100%)

N-{1,3-diaminobutyl}-tert-butoxycarbonyl **44**



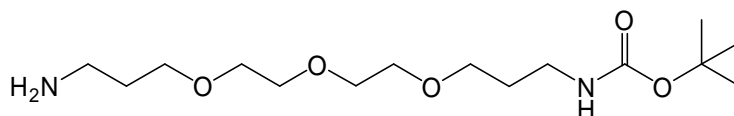
To a solution of 1,3-diaminobutan (2.44g, 27.2mmol, 1.0equiv.) in absolute EtOH (60mL), is added tert-butyl-phenyl carbonate (5.28g, 27.2mmol, 1.0equiv.). The solution is heated to reflux under nitrogen for 20hrs. After cooling to RT, the solution is concentrated under reduced pressure. The residue is taken up in water (200mL), the solution is acidified by a 1M HCl solution to a pH 3-4 and extracted with DCM (2x200mL). The aqueous phase is made strongly basic by addition of a 15% NaOH solution and extracted with DCM (2x250mL). The organic phase is dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford N-{1,3-diaminobutyl}-tert-butoxycarbonyl **44** (2.36g, 46% chemical yield) as a pale orange oil.

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 5.32 (s, 1H), 3.1 (d, J=5.7Hz, 2H), 2.7 (m, 2H), 2.14 (m, 2H), 1.48 (s, 9H), 1.28 (s, 2H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm) 157.0, 77.8, 40.9, 39.6, 29.9, 27.9, 26.7

MS (ES⁺): m/z 189.3 ([M+H]⁺, 100%), 189.3 ([M-C₄H₇]⁺, 70%)

N-tert-butoxycarbonyl-4,7,10-trioxa-1,13-tridecanamine **45**



To a solution of 4,7,10-trioxa-1,13-tridecanamine (4.01g, 4.0mL, 18.3mmol, 1.01equiv.) in absolute EtOH (100mL), is added tert-butyl-phenyl carbonate (3.51g, 3.3mL, 18.1mmol, 1.0equiv.). The solution is heated to reflux under nitrogen for 20hrs. After cooling to RT, the solution is concentrated under reduced pressure. The residue is taken up in water (150mL), the solution is acidified by a 1M HCl solution to a pH 3-4 and extracted with DCM (3x150mL). The aqueous phase is made strongly basic by addition of a 15% NaOH solution and extracted with DCM (3x200mL). The organic phase is dried over MgSO₄, filtered and

concentrated under reduced pressure. The residue is purified by column chromatography on silica gel (eluent DCM/MeOH/NH₄OH 15% 80/17.5/2.5) to afford N-tert-butoxycarbonyl-4,7,10-trioxa-1,13-tridecanamine **45** (3.88g, 70.5% chemical yield) as a pale yellow oil.

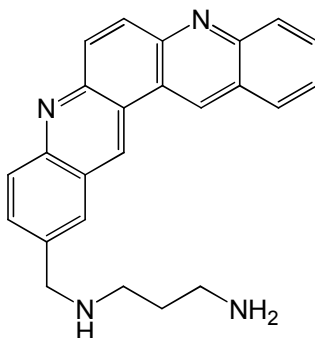
Rf (DCM/MeOH/NH₄OH 15% 8/1.75/0.25): 0.42

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 5.04 (s broad, NH, 1H), 3.57-3.43 (m, 12H), 3.13 (dt, J=6.0Hz, 2H), 2.7 (t, J=6.6Hz, 2H), 1.7-1.64 (m, 4H), 1.35 (s, 9H)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃): δ (ppm) 156.5, 70.98, 71.0, 70.6, 70.57, 69.85, 39.9, 38.8, 33.6, 30.0, 28.8 (3C)

MS (ES⁺): m/z 321.3 ([M+H]⁺, 100%)

N-methyl-2-dibenzo[b,j][4,7]phenanthroline-1,3-diaminopropan **46**



A solution of 2-carboxaldehyde-MPQ **35** (48.4mg, 0.16mmol, 1.0equiv.) and tert-butyl 3-aminopropylcarbamate **43** (36.0mg, 0.20mmol, 1.3equiv.) in MeOH (45mL) is stirred at RT under nitrogen for 16hrs. After the addition of sodium tetrahydruoborate (17.8mg, 0.47mmol, 3.0equiv.), the stirring is maintained for 3hrs under nitrogen. The mixture is diluted with DCM/H₂O (1/1, 100mL). After phases' separation, the organic layer is washed with H₂O (2×30mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. After purification by column chromatography on silica gel (DCM/MeOH 8/2), N-[methyl-2-dibenzo[b,j][4,7]phenanthrolyl]-N'-[tert-butoxycarbonyl]-1,3-diaminopropan is obtained as a pale brown glue (58.0mg, 79.2% chemical yield).

Rf (DCM/MeOH 8/2) = 0.3

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 9.25 (s, 1H), 9.20 (s, 1H), 8.20 (d, J=9.0Hz, 1H), 8.14-8.0 (m, 4H), 7.98 (s, 1H), 8.82-8.72 (m, 2H), 7.60 (t, J=9.0Hz, 1H), 4.0 (s, 2H), 3.2 (t, J=6.0Hz, 2H), 2.82 (t, J=6.0Hz, 2H), 1.78 (t, J=6.0Hz, 2H), 1.44 (s, 9H)

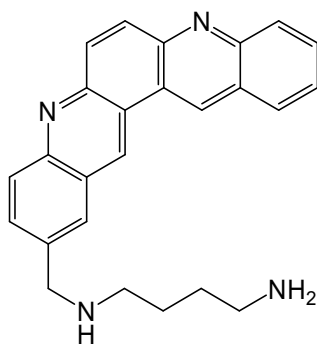
MS (ES⁺): m/z 467.2 ([M+H]⁺, 100%)

A solution of N-[methyl-2-dibenzo[b,j][4,7]phenanthrolyl]-N'-[tert-butoxycarbonyl]-1,3-diaminopropan (63.6mg, 0.12mmol, 1.0equiv.) in a minimal amount of MeOH/HCl (solution prepared with dry MeOH and acetyl chloride) is stirred at RT under nitrogen for 6hrs. Upon addition of Et₂O, a precipitate is formed and recovered by filtration. After several Et₂O washings, N-methyl-2-dibenzo[b,j][4,7]phenanthroline-1,3-diaminopropan dihydrochloride is obtained as a yellow powder (45.6mg). For its neutralization, the dihydrochloride (45.6mg, 0.064mmol, 1.0equiv.) is suspended in acetonitrile (3mL) and solubilized by addition of a minimal amount of water. The pH is adjusted at 9 by progressive addition of cesium carbonate and the solution is concentrated under reduced pressure. The obtained residue is stirred in DCM for 2hrs and the resulting suspension is filtered off to eliminate inorganic salts. The filtrate is concentrated under reduced pressure to give N-methyl-2-dibenzo[b,j][4,7]phenanthroline-1,3-diaminopropan **46** as a yellow solid (33.0mg, 58% over two steps).

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 9.4 (s, 1H), 9.26 (s, 1H), 8.24-8.10 (m, 5H), 8.0 (s, 1H), 8.87-8.80 (m, 2H), 7.66 (t, J=9.0Hz, 1H), 4.1 (s, 2H), 2.80 (t, J=6.0Hz, 2H), 1.73 (t, J=6.0Hz, 2H), 1.24 (t, J=6.0Hz, 2H)

MS (CI⁺): *m/z* 367.2 ([M+H]⁺, 100%)

N-methyl-2-dibenzo[b,j][4,7]phenanthroline-1,4-diaminobutan 47



A solution of 2-carboxaldehyde-MPQ **35** (38.1mg, 0.12mmol, 1.0equiv.) and tert-butyl 4-aminobutylcarbamate **44** (30.5mg, 0.16mmol, 1.3equiv.) in MeOH (40mL) is stirred at RT under nitrogen for 24hrs. After the addition of sodium tetrahydruoborate (14.0mg, 0.37mmol, 3.0equiv.), the stirring is maintained for 5hrs under nitrogen. The mixture is diluted with DCM/H₂O (1/1, 100mL). After phases' separation, the organic layer is washed with H₂O (2×30mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. After

purification by column chromatography on silica gel (DCM/MeOH 8/2), N-[methyl-2-dibenzo[b,j][4,7]phenanthrolyl]-N'-[tert-butoxycarbonyl]-1,4-diaminobutan is obtained as a pale brown glue (44.0mg, 74% chemical yield).

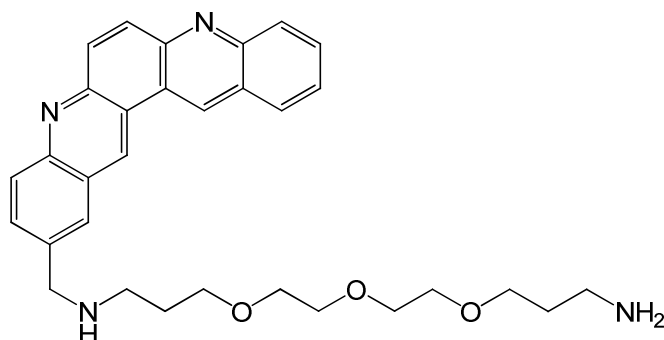
Rf (DCM/MeOH 8/2) = 0.35

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 9.1 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.10 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.98-7.93 (m, 5H), 7.75-7.65 (m, 2H), 7.54 (t, J=9.0Hz, 1H), 4.0 (s, 2H), 3.15 (m, 2H), 1.67-1.56 (m, 4H), 1.44 (s, 9H), 1.22 (m, 2H)

MS (ES⁺): *m/z* 481.1 ([M+H]⁺, 100%), 381.1 ([M+H-Boc]⁺, 100%)

A solution of N-[methyl-2-dibenzo[b,j][4,7]phenanthrolyl]-N'-[tert-butoxycarbonyl]-1,4-diaminobutan (33.0mg, 0.07mmol, 1.0equiv.) in a minimal amount of MeOH/HCl (solution prepared with dry MeOH and acetyl chloride) is stirred at RT under nitrogen for 6hrs. Upon addition of Et₂O, a precipitate is formed and recovered by filtration. After several Et₂O washings, N-methyl-2-dibenzo[b,j][4,7]phenanthroline-1,4-diaminobutan dihydrochloride is obtained as a yellow powder. For its neutralization, the dihydrochloride is suspended in acetonitrile (3mL) and solubilized by addition of a minimal amount of water. The pH is adjusted at 9 by progressive addition of cesium carbonate and the solution is concentrated under reduced pressure. The obtained residue is stirred in DCM for 2hrs and the resulting suspension is filtered off to eliminate inorganic salts. The filtrate is concentrated under reduced pressure to give N-methyl-2-dibenzo[b,j][4,7]phenanthroline-1,4-diaminobutan **47** as an orange-brown sticky oil (20.0mg, 76.3% chemical yield over two steps).

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 9.32 (s, 1H), 9.28 (s, 1H), 8.26-8.14 (m, 4H), 8.07 (d, J=9.0Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.84-7.75 (m, 2H), 7.63 (t, J=9.0Hz, 1H), 4.0 (s, 2H), 2.74 (m, 4H), 1.62 (m, 4H)

N-[methyl-2-dibenzo[b,j][4,7]phenanthrolyl]-4,7,10-trioxa-1,13-tridecanamine 48

A solution of 2-carboxaldehyde-MPQ **35** (63.0mg, 0.2mmol, 1.0equiv.) and N-tert-butoxycarbonyl-4,7,10-trioxa-1,13-tridecanamine **45** (85.2mg, 0.27mmol, 1.3equiv.) in MeOH (54mL) is stirred at RT under nitrogen for 24hrs. After the addition of sodium tetrahydruoborate (24.0mg, 0.61mmol, 3.0equiv.), the stirring is maintained for 5hrs under nitrogen. The mixture is diluted with DCM/H₂O (1/1, 120mL). After phases' separation, the organic layer is washed with H₂O (2×30mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. After purification by column chromatography on silica gel (DCM/MeOH 8/2), N-[methyl-2-dibenzo[b,j][4,7]phenanthrolyl]-N'-[tert-butoxycarbonyl]-4,7,10-trioxa-1,13-tridecanamine is obtained as a brown glue (61.0mg, 49% chemical yield).

Rf (DCM/MeOH 8/2) = 0.35

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 9.13 (s, 2H), 8.14-8.05 (m, 3H), 7.98-7.93 (m, 3H), 7.74 (m, 2H), 7.53 (t, J=9.0Hz, 1H), 4.03 (s, 2H), 3.58 (s, 6H), 3.5-3.4 (m, 6H), 3.17 (m, 2H), 3.0 (m, 2H), 2.0 (quint, J=6.0Hz, 2H), 1.7 (quint, J=6.0Hz, 2H), 1.39 (s, 9H)

MS (ES⁺): m/z 613.28 ([M+H]⁺, 100%), 635.23 ([M+Na]⁺, 40%)

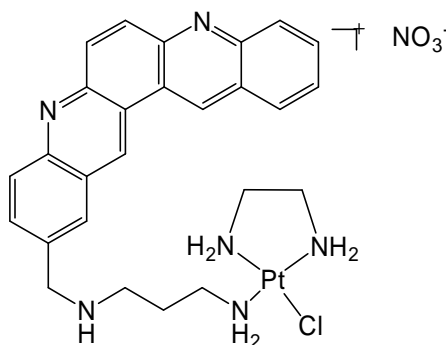
A solution of N-[methyl-2-dibenzo[b,j][4,7]phenanthrolyl]-N'-[tert-butoxycarbonyl]-4,7,10-trioxa-1,13-tridecanamine (33.0mg, 0.07mmol, 1.0equiv.) in a minimal amount of MeOH/HCl (solution prepared with dry MeOH and acetyl chloride) is stirred at RT under nitrogen for 6hrs. Upon addition of Et₂O, a precipitate is formed and recovered by filtration. After several Et₂O washings, N-[methyl-2-dibenzo[b,j][4,7]phenanthrolyl]-4,7,10-trioxa-1,13-tridecanamine dihydrochloride is obtained as a yellow sticky solid. For its neutralization, the dihydrochloride is suspended in acetonitrile (4mL) and solubilized by addition of a minimal amount of water. The pH is adjusted at 9 by progressive addition of cesium carbonate and the solution is concentrated under reduced pressure. The obtained residue is stirred in DCM for 2hrs and the resulting suspension is filtered off to eliminate inorganic salts. The filtrate is

concentrated under reduced pressure to give N-[methyl-2-dibenzo[b,j][4,7]phenanthrolyl]-4,7,10-trioxa-1,13-tridecanamine **48** as an orange-brown sticky oil (43.0mg, 76.3% chemical yield over two steps).

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃): δ (ppm) 9.29 (s, 1H), 9.25 (s, 1H), 8.24-8.12 (m, 4H), 8.05 (d, J=6Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.80-7.74 (m, 2H), 7.61 (t, J=6.0Hz, 1H), 4.0 (s, 2H), 3.6 (m, 8H), 3.52-3.46 (m, 4H), 2.81 (t, J=6.0Hz, 2H), 2.73 (t, J=6.0Hz, 2H), 1.86 (quint, J=6.0Hz, 2H), 1.66 (quint, J=6.0Hz, 2H)

MS (ES⁺): *m/z* 513.20 ([M+H]⁺, 100%)

Pt-MPQ-C3 **49**



A solution of silver nitrate (11.0mg, 0.06mmol, 0.95equiv.) in dry DMF (0.5mL) is added to a suspension of Pt(en)Cl₂ **39** (22.2mg, 0.068mmol, 1.0equiv.) in dry DMF (2mL). The mixture is stirred at RT under nitrogen for 16hrs, protected from light. The resulting suspension is filtered on membrane (Schleicher and Schuell, 1μm) to remove silver chloride salts. A solution of N-methyl-2-dibenzo[b,j][4,7]phenanthroline-1,3-diaminopropan **46** (20.0mg, 0.05mmol, 0.8equiv.) in dry DMF (1mL) is added to the clear filtrate containing the activated complex Pt(en)Cl(DMF)⁺. The mixture is stirred at 40°C under nitrogen, protected from light, for 16hrs. The solution is concentrated under reduced pressure and the residue is taken up in MeOH (5mL). The resulting suspension is filtered off on membrane to remove unreacted platinum complexes. After concentration of the filtrate, the residue is washed with DCM and dried to give **Pt-MPQ-C3 49** as a pale yellow solid (28.0mg, 48% chemical yield).

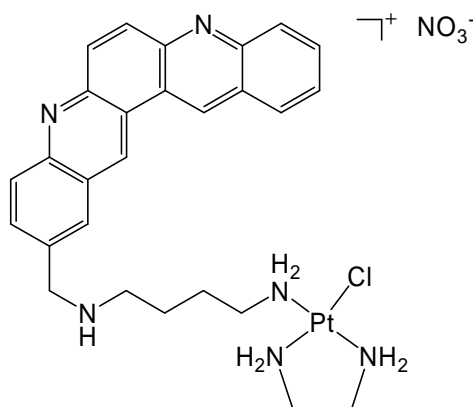
¹H-NMR (300MHz, MeOD): δ (ppm) 9.81 (s, 1H), 9.78 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.19-8.1 (m, 6H), 7.9 (t, 9.0Hz, 1H), 7.73 (t, J=9.0Hz, 1H), 4.68 (d, J=12.0Hz, 1H), 4.26 (d, 12.0Hz, 1H), 3.06 (m, 2H), 2.8 (m, 1H), 2.6-2.4 (m, 5H), 2.2 (m, 1H), 1.97 (m, 1H)

MS (ES⁺): *m/z* 657.12 ([M]⁺, 100%), 620.1 ([M-Cl]⁺, 76%)

MS (TOF ES⁺): m/z 620.2 ([M-HCl]⁺, 100%)

HRMS: (MeOH) Ionisation: TOF ES⁺ Calcd for: C₂₆H₂₉N₆¹⁹⁵Pt 620.2102 Found: 620.2119.

Pt-MPQ-C4 50



A solution of silver nitrate (6.4mg, 0.037mmol, 0.95equiv.) in dry DMF (0.4mL) is added to a suspension of Pt(en)Cl₂ **39** (12.9mg, 0.039mmol, 1.0equiv.) in dry DMF (1.5mL). The mixture is stirred at RT under nitrogen for 16hrs, protected from light. The resulting suspension is filtered on membrane (Schleicher and Schuell, 1μm) to remove silver chloride salts. A solution of N-methyl-2-dibenzo[b,j][4,7]phenanthroline-1,4-diaminobutan **47** (12.0mg, 0.03mmol, 0.8equiv.) in dry DMF (1mL) is added to the clear filtrate containing the activated complex Pt(en)Cl(DMF)⁺. The mixture is stirred at 40°C under nitrogen, protected from light, for 16hrs. The solution is concentrated under reduced pressure and the residue is taken up in MeOH (5mL). The resulting suspension is filtered off on membrane to remove unreacted platinum complexes. After concentration of the filtrate, the residue is washed with DCM and dried to give **Pt-MPQ-C4 50** as an orange powder (28.0mg, 48% chemical yield).

¹H-NMR (300MHz, MeOD): δ (ppm) 9.97 (s, 1H), 9.94 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.35-8.12 (m, 6H), 7.97 (t, 7.5Hz, 1H), 7.79 (t, J=7.5Hz, 1H), 4.5 (d, J=15.0Hz, 1H), 4.23 (d, 15.0Hz, 1H), 3.05 (m, 2H), 2.69-2.5 (m, 7H), 1.29 (m, 2H), 0.88 (m, 2H)

MS (ES⁺): m/z 671.14 ([M]⁺, 33%), 634.15 ([M-HCl]⁺, 100%)

MS (TOF ES⁺): m/z 671.14 ([M]⁺, 22.2%), 634.15 ([M-HCl]⁺, 100%)

HRMS (MeOH) Ionisation: TOF ES⁺ Calcd for: C₂₇H₃₁N₆¹⁹⁵Pt 634.2274 Found: 634.2258

X-ray diffraction:

X-ray crystallography was provided by the ICCMO in Orsay. Data were collected by using a Kappa X8 APPEX II Bruker diffractometer with graphite-monochromated MoK α radiation ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). The temperature of the crystal was maintained at the selected value (100K) by means of a 700 series Cryostream cooling device to within an accuracy of $\pm 1 \text{ K}$. The data were corrected for Lorentz, polarization, and absorption effects. The structures were solved by direct methods using SHELXS-97 (G. M. Sheldrick, SHELXS-97, Program for Crystal Structure Solution, University of Göttingen, Göttingen, Germany, 1997) and refined against F² by full-matrix least-squares techniques using SHELXL-97 (G. M. Sheldrick, SHELXL-97, Program for the refinement of crystal structures from diffraction data, University of Göttingen, Göttingen, Germany, 1997) with anisotropic displacement parameters for all non-hydrogen atoms. Hydrogen atoms were located on a difference Fourier map and introduced into the calculations as a riding model with isotropic thermal parameters. All calculations were performed by using the Crystal Structure crystallographic software package WINGX (L.J. Farrugia, *J. Appl. Cryst.* **1999**, 32, 837-838).

Compound 8d

After 2,8,14-propyloxy-5,11,17-triazatrinaphthylene **8d** was dissolved in chloroform, orange needles suitable for X-ray diffraction were obtained upon slow evaporation of the solvent.

Crystal data

C₃₆H₃₃N₃O₃·2(CHCl₃)

M = 794.43

Triclinic, P-1

a = 10.3469 (11) Å

b = 13.0916 (14) Å

c = 14.2306 (16) Å

$\alpha = 92.913 (2)$ $\beta = 101.334 (2)$ $\gamma = 104.316 (2)$

V = 1821.3 Å³

Z = 2 Z' = 0

R-factor (%) = 6.01

T = 100(1) K

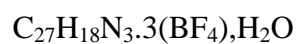
$$\mu(\text{Mo-K}\alpha) = 0.514 \text{ mm}^{-1}$$

27973 reflections measured

Compound 17b

Suitable crystals for X-ray diffraction of Trisquinolizinium **17b** were obtained from a solution in acetonitrile/water 1/1.

Crystal data



$$M = 662.881$$

Orthorhombic, $P2_12_12_1$

$$a = 15.0598(6) \text{ \AA}$$

$$b = 17.6980(8) \text{ \AA}$$

$$c = 9.9512(4) \text{ \AA}$$

$$\alpha = 90.00^\circ \beta = 90.00^\circ \gamma = 90.00^\circ$$

$$V = 2652.28 \text{ \AA}^3$$

$$Z = 4 \quad Z' = 0$$

$$R\text{-factor (\%)} = 7.37$$

$$T = 100(1) \text{ K}$$

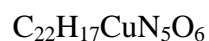
$$\mu(\text{Mo-K}\alpha) = 0.159 \text{ mm}^{-1}$$

80697 reflections measured

Compound 22

Suitable crystals for X-ray diffraction of Cu-ttpty **22** were obtained from the reaction mixture (dichloromethane/acetonitrile).

Crystal data



$$M = 510.96$$

Monoclinic, $P2_1/c$

$$a = 12.996(2) \text{ \AA}$$

$$b = 9.9631(15) \text{ \AA}$$

$c = 17.8565 (18) \text{ \AA}$

$\alpha = 90.00 \beta = 116.763 (8) \gamma = 90.00$

$V = 2064.39 (5) \text{ \AA}^3$

$Z = 4 Z' = 0$

R-factor (%) = 7.33

$T = 100(1) \text{ K}$

$\mu(\text{Mo-K}\alpha) = 1.112 \text{ mm}^{-1}$

30472 reflections measured

Scanning tunnelling microscopy (STM): protocol and equipment

STM is performed using a PicoSPM (Molecular Imaging/Agilent Technology) equipped with a home-built liquid cell. The microscope is isolated from vibrations in a closed box with mechanical suspensions, which also ensures isolation from phonic pollution. The STM tips with a typical length of 1cm are mechanically cut from a 0.25mm diameter platinum/iridium (Pt-Ir 90/10) wire (from Goodfellow). This alloy is highly resistant to corrosion and is not degraded in the scan conditions. The studied molecules are suspended in the deposition's solvent, n-tetradecane (99+% purity, Aldrich) or phenyloctane (98+% purity, Aldrich). The solubility of TrisKs in these solvents being very poor, the saturated solutions are systematically diluted twice prior to deposition on the substrate (two drops). Samples of highly pyrolytic graphite (HOPG) ($1.0 \times 1.0 \text{ cm}^2$, Goodfellow) are prepared just prior the deposition by cleavage using adhesive tape, which produces clean atomically flat surfaces.

STM images are recorded at the liquid/solid interface in the constant-current mode. The images presented in this work are not filtered. The distances and angles values measured on the STM images and used in the network's descriptions are then systematically averaged on two back and forth scans. They are moreover corrected using the measured distances on the underlying substrate whose cell parameter is 2.46 \AA .

DFT calculations

Ab-initio molecular orbital (MO) calculations have been performed on isolated TrisKs molecules using the Gaussian 03W package with geometry optimization using the b3lyp method and the 6-31G* basis followed by calculations of molecular orbitals (MO) and nbo charges. MOs are visualized with the program Gaussview.

Cyclic voltammetry

Cyclic voltammetry experiments were recorded with a computer controlled EG&G potentiostat. The electrochemical measurements were carried out in a 5mL three electrodes cell. The working electrode was glassy carbon, with a Pt wire as counter-electrode and a non-aqueous reference electrode containing 0.01M AgNO₃, 0.1M tetrabutylammonium hexafluorophosphate (TBAPF₆) in dried dichloromethane, and silver wire. The electrolyte was 0.1M TBAPF₆ in dichloromethane, in which the studied molecules are dissolved at approximately 1mM. Ferrocene is used as reference. The oxidation voltage range was from -2.0 to 2.0V, the scan rate was 100mV/s. Argon was bubbled through the solution for 15min prior to the experiment to purge it of dissolved oxygen.

Differential Scanning Calorimetry (DSC)

DSC experiments were carried out on a DSC Q1000 apparatus in the laboratory Matière Molle et Chimie UMR7167 CNRS/ESPCI. Experimental conditions are identical to classical used protocols. Two successive cycles are recorded:

- 5min at 0°C
- Heating to 230°C at a 10°C/min rate
- 5min at 230°C
- Cooling to 0°C at a 10°C/min rate
- 5min at 0°C and second cycle

Fluorescence quantum yields determination:

Fluorescence emission spectra were recorded on a FluoroMax-3 (Jobin Yvon) apparatus spectrophotometer at 20°C. For each compound, fluorescence emission spectra are recorded for two concentrations (1μM and 0.5μM in chloroform, insuring an absorbance inferior to 0.1) and for three different excitation wavelenghts: the wavelenght corresponding to the UV-Vis absorption's maximum ($\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$) and the two others surrounding this value (ca. $\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}-10$ and $\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}+10$).

The quantum yield is then determined following the equation¹:

$$(1) \Phi_F = \frac{F_c A_r}{F_r A_c} \left(\frac{n}{n_0} \right)^2 \Phi_r$$

c subscript refers to the studied compound and *r* to the reference used. Standard used is anthracene in cyclohexane at 10 and 5 μM, which has the following spectroscopic data.

	λ_{abs} (nm)	ϵ	λ_{fluor} (nm)	Φ_r
Anthracene	358	9700	402	0,36

Other symbols have the following meanings:

- Φ is quantum yield.
- *F* is the integrated emission area across the band (sum of the emission intensities across the wavelength's span).
- *A* is the absorbance at excitation wavelength
- *n* is the refraction's index of chloroform (*n*=1.445) and *n*₀ the one of cyclohexane (*n*₀=1.426)

For each studied compound (as for standard), the integrated emission areas *F* are meant with the six measurements performed. The meant value obtained is used in equation (1).

pH-metric titration:

A 10 μM solution (20mL) of compound **14a** in Tritisol pH1 HCl (0.1M) is prepared from a stock solution (2mM DMSO) and placed into a beaker equipped with a magnetic stirrer and a pH sensor. The spectrophotometric titration was performed by adding aliquots of aqueous NaOH solution (from 10M to 1M, aliquots added are as small as possible so the variation in total volume is negligible), measuring the pH of the solution and recording the UV-Vis absorption and fluorescence emission spectra of a portion (3mL) of the solution (using quartz spectrophotometric cells). After recording each spectrum, the solution is quantitatively returned in the titration beaker. The titrations are performed from pH1 to pH9.

¹ Eaton, D. F. Reference materials for fluorescence measurement *Pure & Appl. Chem.*, **1988**, *60*, 1107-1114.

FRET-melting protocol:

Labelled oligonucleotide is purchased from Eurogentec (Belgium); after an initial dilution at 100 μ M concentration in purified water, further dilutions are carried out in the relevant buffer. FRET assay is performed as a high-throughput screen in a 96-well format, with F21T (FAM-G₃[T₂AG₃]₃-Tamra, with FAM: 6-carboxyfluorescein and Tamra: 6-carboxy-tetramethylrhodamine). Fluorescence melting curves were determined with a Stratagene Mx3000P real-time PCR machine, using a total reaction volume of 25 μ L, with 0.2 μ M of tagged oligonucleotide in a buffer containing 10mM lithium cacodylate pH 7.2 and 100mM NaCl or KCl. After a first equilibration step at 25°C during 5 minutes, a stepwise increase of 1°C every minute for 71 cycles to reach 95°C was performed and measurements were made after each “cycle” with excitation at 492nm and detection at 516nm. The melting of the G-quadruplex was monitored alone or in the presence of compounds at 1 μ M and various concentrations of double-stranded competitor ds26 (5'-CAATCGGATCGAATTCGATCCGATTG-3') or tetramolecular G-quadruplex competitor [d(TG₅T)]₄. Final analysis of the data was carried out using Excel and Kaleida graph software. Emission of FAM was normalized between 0 and 1, and $T_{1/2}$ was defined as the temperature for which the normalized emission is 0.5. $\Delta T_{1/2}$ values are mean of 2 to 4 experiments \pm standard deviation.

G4-FID protocol:

Materials:

Stock solutions of ligands (500mM in DMSO) are used for G4-FID assay, unless otherwise stated, and are stored at -30°C. TO (99.99%) was purchased from Aldrich and used without further purification. Oligonucleotides were purchased from Eurogentec (Belgium). 22AG is an oligonucleotide mimicking the human telomeric repeat: [5'-AG₃(T₂AG₃)₃-3']. The thrombin binding aptamer sequence (TBA) is: [5'-G₂T₂G₂TGTG₂T₂G₂-3']. The 17 bp duplex is a biological sequence used in previous studies; the sequences of the two complementary strands are the following: [5'-CCAGTTCGTAGTAACCC-3']/[5'-GGGTTACTACGAACTGG-3']. The sequence of ds26 is self-complementary [5'-CA₂TCG₂ATCGA₂T₂CGATC₂GAT₂G-3'].

Preparation of oligonucleotides :

Quadruplexes from 22AG and TBA are prepared by heating the corresponding oligonucleotides at 90°C for 5min in a 10mM sodium cacodylate buffer pH 7.3, 100 mM KCl and cooling in ice to favor the intramolecular folding by kinetic trapping. For 22AG in Na⁺ buffer, the same protocol is applied in a 10mM sodium cacodylate buffer pH 7.3, 100mM NaCl. Duplex-DNAs are prepared by heating the two corresponding complementary strands (ds17) or the self-complementary strand (ds26) at 90°C for 5min in a 10mM sodium cacodylate buffer pH 7.3, 100 mM KCl followed by a slow cooling over 6 hrs. Concentrations are determined by UV-Vis measurements (after thermal denaturation, 5min at 85°C) at 260 nm before use.

G4-FID protocol :

A temperature of 20°C is kept constant with thermostated cell holders. Each experiment is performed in a 3ml cell, in 10mM sodium cacodylate buffer pH 7.3 with 100mM KCl or 100mM NaCl depending on the experiments, in a total volume of 3mL. The G4-FID assay is designed as follows: 0.25μM pre-folded DNA target is mixed with thiazole orange (0.50μM for 22AG, TBA and ds17, 0.75μM for ds26). Each ligand addition step (from 0.5 to 10 equivalents) is followed by a 3min equilibration period after which the fluorescence spectrum is recorded. The percentage of displacement is calculated from the fluorescence area (FA, 510-750 nm, $\lambda_{ex}=501$ nm), using: percentage of displacement = $100 - [(FA/FA_0) \times 100]$, FA₀ being the fluorescence of TO bound to DNA without added ligand. The percentage of displacement is then plotted as a function of the concentration of added ligand.

CD protocol:

CD spectra were recorded on a JASCO J-710 circular dichroism spectropolarimeter using a 1-mm path length quartz cuvette. Scans were performed at controlled temperature (20°C) over a wavelength range of 210-380nm (only 240-330 is shown), with response time of 0.5s, 1nm pitch and 1nm bandwidth.

Blank spectra of sample containing buffer were subtracted from collected data. The CD spectra represent an average of five scans and are zero-corrected at 330nm.

Annealed 22AG was used at 3 μ M in sodium cacodylate buffer (10mM, pH 7.4) with 100mM of KCl or NaCl where appropriate. Non-annealed 22AG was used at 3 μ M in Tris-HCl buffer (10mM, pH 7.4, Tris = tris(hydroxymethyl)aminomethane). 22AG folded in presence of Li⁺ cation was used at 3 μ M in Tris-HCl buffer, with 100mM LiCl.

Quadruplexes were annealed where necessary by heating at 90°C for 5min and cooled directly to 4°C to favor the intramolecular folding by kinetic trapping. Non-annealed 22AG was prepared by heating 22AG at 90°C, in a cation-free environment, and cooled directly a 4°C. Concentrations are evaluated by UV measurements (after thermal denaturation for annealed 22AG (5min at 90°C)) before use.

Gel electrophoresis experiments:

5'-end-labeling of oligonucleotides:

22AG (d[AG₃(T₂AG₃)₃]) was synthesised and purified by Eurogentec, desalted on a Sephadex G25 column and stored at –20 °C as a 1mM aqueous solution. The oligonucleotide was 5'-end-labeled using polynucleotide kinase (Pharmacia Biotech) and [γ^{32} P]ATP (Pharmacia Biotech). The reaction products were purified on 20% denaturing gel electrophoresis and desalted on a Sephadex G25 column.

Platination experiments of 22AG:

5'-end radiolabeled 22AG was mixed with 100 μ M of non-radiolabeled material in 50mM NaClO₄ or KClO₄ solution, heated at 90°C for 5min and allowed to reach RT (2hrs) to induce the formation of quadruplex structure. It was then incubated with 100 μ M of ligand. Reactions were run for 4 or 16hrs at 37°C (incubation up to five equivalents of **Pt-MPQ** did not significantly increase the amount of platinated products).

Non-denaturing gel electrophoresis:

Non-denaturing gel electrophoresis of 22AG and products of interest was performed as previously described¹ with 12% polyacrylamide gels (29:1 acrylamide: bisacrylamide ratio)

¹ Ourliac-Garnier, I.; Elizondo-Riojas, M.-A.; Redon, S.; Farrell, N.P.; Bombard, S. *Biochemistry* **2005**, *44*, 10620-10634.

containing Tris(hydroxymethyl)aminomethane-borate (0.088M Tris-borate pH 8.3) EDTA (0.002M) in 50 mM KCl at 4°C. Gel migration is performed over a 18hrs period, at 140V.

Determination and quantification of the platinum binding sites by DMS:

After their separation by gel electrophoresis, the different products of the platination reaction were eluted from gel and precipitated with ethanol. The platinated products were treated with dimethylsulfate (DMS)/piperidine (probe of the free N₇) in Maxam-Gilbert sequencing conditions: the oligonucleotides were dissolved in 20μL of water and incubated with 1μL of DMS for 1min at 37°C; after precipitation, the oligonucleotides were incubated with 50μL of 1M piperidine aqueous solution at 90°C for 20min; After evaporation of the piperidine, the oligonucleotides were deplatinated by 0.2M NaCN overnight and migrated on a 20% denaturing gel electrophoresis. The gels were then analyzed by a Dynamics Molecular Phosphorimager with the Imagequant software for data processing. As the N₇-platinated guanines are no longer reactive with DMS, the platinated sites can be deduced from the absence of the spots corresponding to the cleavable guanosines. The spots were quantified by the Imagequant software allowing the determination of the percentage of cleavage at each guanine position. In DMS footprinting experiment of **Pt-MPQ** (cf Partie 2, Chapitre 3, §III.2.3.1), the relative intensity of the spots corresponding to G22 (**I**, lane b on the gel) and G2 (**II**, lane b) represents less than 5% of the intensity of the same spots for 22AG (22AG, lane b).

Determination of the platinum binding sites by 3'-exonuclease digestion:

3'-exonuclease digestion was used to determine the adenine platination sites (for terpyridine complexes) and all the guanine platination sites that could not be detected by the DMS/piperidine treatment (mixture of platinated products for hybrid quinacridine/platinum complexes). This enzyme is usually employed to determine the platination sites of oligonucleotides since its digestion is stopped by platinum mono-adducts. The platinated products, isolated from gel electrophoresis, were incubated in 10mM Tris-HCl buffer (pH 8.0), in the presence of 2mM MgCl₂ and 0.5mg/mL t-RNA with the 3'-exonuclease phosphodiesterase I from crotalus adamanteus venom (UBS) at 0.04u/μL for 30min at 37°C. The partial digestion of non-platinated oligonucleotide was run with 0.001u/μL. The digested fragments were purified on a 20% denaturing gel. The migration of the fragments depends on

the presence of platinum adducts; therefore, each of them has been eluted from the gel, precipitated and deplatinated by 0.2M NaCN for 18hrs at 37°C. After precipitation in ethanol, the deplatinated fragments were migrated on 20% denaturing gel. Their migrations were compared to those of the fragments obtained by partial digestion of the starting oligonucleotide. From their migration, we can determine their length and consequently the platinated base where the 3'-exonuclease stopped its digestion.

Quadruplex- vs duplex-DNA selectivity of **Pt-MPQ**:

To compare the platination kinetics of duplex- and quadruplex-DNA, an oligonucleotide that contains both structures was used, [35G4/13GG], that results from association of a 35nt oligonucleotide (35G4, d[AG₃(T₂AG₃)₃TAT₂ATC₂AT₂AT]) in which the sequence of 22AG is flanked by a guanine-less 13nt tail and a 13nt oligonucleotide with complementary sequence (13GG, d[ATA₂TG₂ATA₂TA]). Reactions were performed with radiolabeled 35G4 or 13GG, by mixing the radiolabeled oligonucleotide with 100μM of both the non-radiolabeled material and its complementary strand. The mixture is heated at 90°C for 5min and slowly cooled to RT (2hrs) to induce the formation of both the quadruplex- and duplex-DNA parts of [35G4/13GG] system. Platination reactions were initiated by adding 150μM of **Pt-MPQ** (50mM NaClO₄ solution); the reaction was performed for 240min, and the platination progress was monitored by a periodical collection of aliquots of 2μL. The reaction was stopped by adding an equal volume of formamide containing 0.2M EDTA, and immediately frozen in liquid nitrogen. The samples were then loaded on denaturing gel electrophoresis (15% and 20% acrylamide for experiments carried out with radiolabeled 35G4 and 13GG respectively). After separation of the platination products, the various spots were analyzed by a Dynamics Molecular Phosphorimager with the Imagequant software for data processing.

Résumé : Dans ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés à la synthèse et l'utilisation d'outils chimiques pour l'étude des interactions intermoléculaires dans le domaine des nano-structures et dans celui de la biologie.

Dans ce but, nous avons développé une famille de molécules, les triazatrinaphthylènes (TrisK), se caractérisant par un large cœur aromatique ainsi que par la diversité des chaînes latérales qui peuvent y être introduites, leur nature gouvernant le type d'application désirée.

L'introduction de chaînes lipophiles confère aux TrisKs des propriétés d'auto-assemblage sur des surfaces. Les monocouches auto-assemblées obtenues sont étudiées par microscopie à effet tunnel (STM). Ces études constituent un premier pas dans la caractérisation des TrisKs en tant qu'éventuels composants actifs dans le domaine des matériaux organiques.

La substitution des TrisKs par des chaînes aminées leur apporte de l'hydro-solubilité, les rendant particulièrement adaptés pour le ciblage d'une structure particulière d'ADN, l'ADN G-quadruplexe. Cette structure est actuellement étudiée de manière intensive pour son rôle central dans ce qui pourrait constituer une nouvelle stratégie anti-cancéreuse. Nous avons également développé l'utilisation de complexes de platine pour interagir sélectivement avec ces structures.

Mots-clés: synthèse organique, hétérocycles aromatiques, complexes de platine, symétrie C_{3h} , auto-assemblage, microscopie à effet tunnel, ADN G-quadruplexe, interaction ADN/ligand.

Title: Extended aromatic heterocycles: structural modifications for 2D self-assembly and G-quadruplex DNA recognition

Abstract: We focused on the synthesis and use of chemical tools that enable the study of intermolecular relationships either in biological or nano-devices domains.

To this end, we developed a series of triazatrinaphthylene (TrisK) molecules characterized by a substantial aromatic core as well as a wide diversity of the side-arms that can be introduced whose nature depends on the desired application.

We found that introduction of lipophilic side-chains into TrisK confers 2D self-assembling properties on surfaces. The organic monolayers so obtained were studied by means of scanning tunneling microscopy (STM). These studies constitute a first step toward the characterization of TrisK molecules as potential active components in the field of organic materials.

TrisK substituted by amine side-chains, which impart water-solubility to the aromatic system, are perfectly suited for targeting a peculiar DNA structure, the G-quadruplex. This structure is currently the subject of intensive studies for its central role in what could constitute a novel anti-cancer strategy. We have also developed the use of platinum complexes aimed at selectively interact with these structures.

Keywords: organic synthesis, aromatic heterocycles, platinum complexes, C_{3h} symmetry, self-assembly, scanning tunneling microscopy, G-quadruplex DNA, DNA/ligand interaction.